WERTIGKEIT DER BESTIMMUNG VON BETA$_2$-MIKROGLOBULIN UND CEA IN DER DIAGNOSTIK MALIGNER TUMOREN UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DES PANKREASKARZINOMS UND SEINER ABGRENZUNG GEGENÜBER ANDEREN ERKRANKUNGEN DES GASTROINTESTINALTRAKTES

Christian Hannig

1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547028_0065

AUS DEM INSTITUT FÜR KLINISCHE CHEMIE
AM KLINIKUM GROSSHADERN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof.Dr.M.Knedel

WERTIGKEIT DER BESTIMMUNG VON $BETA_2$- MIKROGLOBULIN UND CEA IN DER DIAGNOSTIK MALIGNER TUMOREN UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DES PANKREASKARZINOMS UND SEINER ABGRENZUNG GEGENÜBER ANDEREN ERKRANKUNGEN DES GASTROINTESTINALTRAKTES

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität in München

vorgelegt von
Christian H a n n i g
aus Krailling

1981

Mit Genehmigung des Fachbereiches Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.A.FATEH-MOGHADAM
Mitberichterstatter: Prof.Dr.M.KNEDEL
Dekan: Prof.Dr.W.SPANN

Tag der mündlichen Prüfung:

26.Mai 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

K A P I T E L 1

EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

1.1. Grundlagen der Tumorimmunologie
1.2. Beispiele für bisher klinisch relevante Tumorantigene
1.3. Grenzen der Anwendbarkeit und der diagnostischen Aussagekraft von AFP, CEA und den Paraproteinen
1.4. Multifakterielle Labordiagnostik als Weg zu höherer Organspezifität
1.5. Themafrage

K A P I T E L 2

ÜBERBLICK

2.1. Das theoretische Konzept der Tumorimmunologie
2.1.1. Die tumorspezifischen Transplantationsantigene (TSTA)
2.1.2. Die sogenannten tumorassoziierten Antigene (TAA)
2.2. $ß_2$ - Mikroglobulin
2.2.1. Physikalisch chemische Eigenschaften
2.2.2. Vorkommen von $ß_2m$
2.2.3. Beziehung von $ß_2m$ zum Immunsystem
2.2.3.1. Strukturelle Verwandtschaft mit menschlichem IgG
2.2.3.2. Beziehung von $ß_2m$ zu HLA-Antigenen
2.2.3.3. Funktion von $ß_2m$ im Immunsystem
2.2.4. Bestimmungsmethoden für $ß_2m$
2.2.5. Bisherige klinische Bedeutung der Bestimmung von $ß_2m$
2.3. Carcinoembryonales Antigen (CEA)
2.3.1. Physikalisch chemische Eigenschaften
2.3.2. Vorkommen von CEA
2.3.3. Beziehung von CEA zum Immunsystem
2.3.4. Bestimmungsmethoden von CEA

2.3.5. Klinische Bedeutung der Bestimmung von CEA

K A P I T E L 3

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Methodik und Statistik
3.1.1. Gewinnung und Lagerung der Proben für die Bestimmung von $ß_2$m und CEA
3.1.2. Der "Phadebas $ß_2$-micro-Test"
3.1.3. Prinzip der Methode
3.1.4. Praktische Durchführung des Phadebas $ß_2$micro-Tests
3.1.4.1. Notwendige Laborgeräte und Reagenzien
3.1.4.2. Ansetzen der Reagenzien für den Test
3.1.4.3. Ansetzen der Eichlösungen
3.1.4.4. Verdünnung der zu untersuchenden Proben
3.1.4.5. Testgang
3.1.4.6. Auswertung des Tests
3.1.4.7. Qualitätskontrolle des Phadebas $ß_2$micro-Tests
3.1.5. Bestimmung des carcinoebryonalen Antigens mittels des CEA (Roche) RIA - Tests
3.1.5.1. Prinzip der Methode
3.1.5.2. Reagenzien
3.1.5.3. Praktische Durchführung des Tests
3.1.5.3.1. Vorgehen zur Plasmaextraktion mit Perchlorsäure und Dialyse
3.1.5.3.2. Standard-Inhibitionskurve
3.1.5.3.3. Bestimmung des CEA-Gehaltes
3.1.5.3.4. Direkte Bestimmung von CEA-Titern über 20 ng/ml
3.1.5.4. Fehlerquellen des CEA-Tests
3.1.5.5. Qualitätskontrolle des CEA-RIA-Kits
3.1.6. Bestimmung der Plasmakreatininwerte
3.1.7. Statistische Auswertung

3.2. Untersuchtes Material
3.2.1. Spezielle Berücksichtigung des höheren Durchschnittsalters des Patientenkollektivs
3.2.2. Schema zur Diagnosesicherung in der Differentialdiagnose chronisch rezidivierender Pankreatitis/Pankreas-Ca

3.3. Ergebnisse
3.3.1. Erstellung einer Normalwertverteilung der $ß_2$m-Serum - konzentrationen aus einem Kollektiv gesunder Test-personen
3.3.1.1. Der selbst erstellte Referenzbereich im Vergleich zu dem anderer Autoren
3.3.2. Betrachtung der Verteilung der gefundenen $ß_2$m und CEA-Konzentrationen in den einzelnen Diagnosegrup-pen.
3.3.2.1. Diagnosegruppe: Pankreaskarzinom
3.3.2.2. Diagnosegruppe: Pankreatitis
3.3.2.3. Diagnosegruppe: Morbus Crohn
3.3.2.4. Diagnosegruppe: Colorektale Karzinome
3.3.2.5. Diagnosegruppe: Magenkarzinom
3.3.2.6. Diagnosegruppe: Mammakarzinom
3.3.2.7. Diagnosegruppe: Uterus-Ovarialkarzinom
3.3.2.8. Diagnosegruppe: Andere Malignome
3.3.2.9. Diagnosegruppe: Andere benigne Darmerkrankungen
3.3.3. Zusammenfassende und vergleichende Betrachtung der Ergebnisse und statistische Auswertung
3.3.3.1. Übersicht über die prozentuale Verteilung der Werte und Wertekombinationen in den einzelnen Diagnose-gruppen
3.3.3.2. Gegenüberstellung der Konzentrationsverteilungen von $ß_2$m und CEA in der Differentialdiagnose chro-nisch rezidivierender Pankreatitis, Pankreas-Ca
3.3.3.3. Darstellung der Einzelwerte der $ß_2$m und CEA-Be-stimmung für die verschiedenen Diagnosegruppen
3.3.3.4. Statistische Prüfung der gefundenen Abhängigkeiten

K A P I T E L 4

DISKUSSION

K A P I T E L 5

ZUSAMMENFASSUNG

EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

1.1. Grundlagen der Tumorimmunologie

Die Suche nach sensiblen und spezifischen biochemischen Parametern als Nachweis maligner Neoplasien ist heute Gegenstand intensiver Bemühungen.
Obwohl tumorspezifische Reaktionen schon seit dem späten 19. Jahrhundert bekannt sind, wurden klinisch relevante Erkenntnisse erst unter Einbeziehung der Grundlagen der Transplantationsimmunologie sowie durch die Züchtung syngener Tierstämme möglich. Der definitive Beweis der Existenz "tumorspezifischer Transplantationsantigene"(TSTA) gelang Faley im Jahre 1963. Er konnte zeigen, daß ingezüchtete Mäusestämme in der Lage waren, syngene oder allogene chemisch induzierte Tumoren, gegen die sie vorher immunisiert worden waren abzustoßen.
Die erklärten Ziele dieser neu entstandenen Tumorimmunologie, nämlich die Auffindung von Parametern (Antigenen, Indikatorproteinen o.ä.) für die (Früh-) Diagnose und die Verlaufsbeurteilung von Tumorerkrankungen oder etwa die Durchführung einer Immuntherapie sind bis heute in einem nur sehr unvollkommenem Maße erreicht worden.

1.2. Beispiele für klinisch relevante Tumorantigene

In letzter Zeit wurde versucht, die verschiedensten "Tumorassoziierten Antigene" für die klinische Diagnostik nutzbar zu machen. Zu den wenigen bisher "klinisch etablierten" und für die Diagnostik, bzw. Verlaufsbeurteilung maligner Tumoren bedeutsamen onkofetalen Antigenen gehören heute das carcinoembryonale Antigen (CEA), die Paraproteine und das Alpha-Fetoprotein (AFP). (1, 50, 57, 72, 80, 84, 128, 139, 149).

1.3. Grenzen der Anwendbarkeit und der Aussagekraft der bisher untersuchten Tumorassoziierten Antigene

Die Grenzen der diagnostischen Aussagekraft der Bestimmung von AFP und der Paraproteine im Serum ergeben sich

aus dem relativ geringen Spektrum von Erkrankungen, bei denen signifikant erhöhte Spiegel dieser Antigene gefunden werden. So ist die AFP-Bestimmung lediglich von klinischem Wert bei Verdacht auf Hepatome, teratogene Tumore (z.B. Hoden, Ovar) und zur postoperativen Verlaufs- bzw. Therapiekontrolle bei AFP-positiven Tumoren. (17) Weiters ermöglicht die Bestimmung von AFP im Serum und in der Amnionflüssigkeit Schwangerer die Diagnose fötaler Mißbildungen (insb. Spinabifida u. Anenzephalie). (17)

Der diagnostische Aussagewert der Bestimmung der monoklonalen Immunglobuline beschränkt sich auf die relativ kleine Gruppe von Erkrankungen, die unter dem Begriff "paraproteinämische Hämoblastosen" zusammengefaßt werden. Diese sind im wesentlichen die verschiedenen Plasmozytomformen und der Morbus Waldenström.
Etwas anders verhalten sich die Einschränkungen für das carcinoembryonale Antigen. Die klinische Bedeutung von CEA liegt vor allem in seiner vermehrten Bildung in Adenocarcinomen des Colons und Rectums und beim Pankreaskarzinom, bei welchen Plasmaspiegel bis über 20 ng/ml beobachtet werden, aber auch bei anderen gastrointestinalen (z.B. Oesophagus, Magen, Gallenblase) sowie extragastrointestinalen Tumoren (z.B. Lungen-, Mamma-, Urogenital-, Prostata-, Ovarial-Ca).
Die diagnostische Wertigkeit der CEA-Bestimmung wird vor allem dadurch beeinträchtigt, daß auch bei einer Vielzahl von nicht malignen Erkrankungen, insbesondere Entzündungen im Bereich des Magen- Darm-Traktes, Lebererkrankungen, darunter vor allem bei alkoholischer Lebercirrhose, alkoholischer Pankreatitis und bei starken Rauchern häufig erhöhte CEA-Werte gefunden werden (78). Im Gegensatz zu den teilweise sehr hohen CEA-Werten bei malignen Erkrankungen werden bei diesen nicht malignen Erkrankungen in der Regel nur mäßig erhöhte CEA-Spiegel gefunden. Somit kann keine feste Grenze zwischen nicht malignen und malignen Erkrankungen gezogen werden. Es ergibt sich vielmehr

eine "Überlappungsgrenze" bzw. Grauzone (zwischen 2,5 und 10 ng/ml), in der die Unterscheidung "maligne" oder "nicht maligne" noch nicht getroffen werden kann. Die erhöhten CEA-Werte finden sich in einem Stadium, in dem die Diagnose häufig bereits durch andere Methoden gesichert ist.
Die CEA-Bestimmung ist somit kein geeigneter Test zur Frühdiagnostik und auch kein Karzinom-Screeningtest. (6, 7, 47,54, 78, 88). Eine gewisse Wertigkeit hat die CEA-Bestimmung bei Verdacht auf Pancreas-Karzinom, da dieses wegen der Organlokalisation meist nur durch invasive Verfahren diagnostiziert werden kann. (88, 92, 102, 103). Die diagnostische Aussage ist jedoch auf Grund erhöhter CEA-Werte bei Pankreatitis sowie normaler Werte bei gesichertem Pankreaskarzinom und anderer oben erwähnter unspezifischer Faktoren (Entzündungen, Rauchen. . .) einge - schränkt. (78)

1.4. Multifakterielle Labordiagnostik als Weg zu höherer Organspezifität

In den letzten Jahren wurde versucht, durch gleichzeitige Bestimmung verschiedener Parameter Testsysteme mit erhöhter Spezifität und evtl. größerer Empfindlichkeit zu entwickeln. Einige Arbeitsgruppen versuchten, das gleiche Ziel durch Bestimmung von organspezifischen "Tumorantigenen" zu erreichen. Erwähnt sei hier z.B. die gleichzeitige Bestimmung von CEA, Alpha-Fetoprotein, Beta-HCG und Kappa-Casein, bzw.CEA und HCG oder CEA, Beta-HCG, Kappa-Casein und akute Phasenproteine in der Diagnostik und Verlaufsbeurteilung des Mamma-Karzinoms; CEA, einige Enzyme und Bikarbonat im Pankreassekret für die Erkennung des Pankreaskarzinoms; Alpha-Fetoprotein und Beta-HCG bei Hodentumoren; Calcitonin und CEA für die Diagnostik des medullären Schilddrüsen-Karzinoms. Es sei auch die Wertigkeit der Bestimmung von Antithyroglobulin-Antikörper in der Verlaufsbeurteilung von Schilddrüsenmalignomen hervorgehoben. (2,47).
Über die Bedeutung der Bestimmung von POA (pankreoonkofetales Antigen) und CEA für die Erkennung des Pankreaskarzi-

noms berichteten u.a. WOOD und MOOSSA. Die POA-Bestimmung zeichnet sich aus durch hohe Empfindlichkeit und einen hohen Prozentsatz der negativen PV. (145 a).

1.5. Themafrage

Ziel dieser Arbeit war es zu prüfen, ob mit Hilfe der gleichzeitigen CEA- und $ß_2$-Mikroglobulinbestimmung die Differenzierung des Pankreaskarzinoms gegenüber der differentialdiagnostisch in Frage kommenden chronisch rezidivierenden Pankreatitis, entzündlichen Darmerkrankungen und kolorektalen Tumoren zu verbessern ist, um so einen Beitrag in der serologischen Diagnostik des Pankreaskarzinoms, das wegen der Organlokalisation so schwer zu diagnostizieren ist, zu leisten. Das $ß_2$-Mikroglobulin schien uns deshalb für die erwähnte Zielsetzung geeignet, da es bei verschiedenen Karzinomen, RES-Malignomen, Leukämien und Myelomen (35, 41, 68, 69), seltener jedoch bei entzündlichen Erkrankungen erhöht gefunden wurde (35). Zudem kann $ß_2m$ in einfacher Weise radioimmunologisch bestimmt werden.

K A P I T E L 2

ÜBERBLICK

In diesem Kapitel wird zunächst eine kurze Übersicht über das theoretische Konzept der Tumorimmunologie gegeben und anschliessend auf die beiden in dieser Arbeit zur Untersuchung kommenden "Tumormaker" $ß_2$-Mikroglobulin und carcinoembryonales Antigen im Hinblick auf ihre physikalisch-chemischen Eigenschaften, Bestimmungsmethoden, Vorkommen und immunologischen Eigenschaften, sowie ihre bisherige klinische Bedeutung näher eingegangen.

2.1. Das theoretische Konzept der Tumorimmunologie

Testmethoden, die von tumorimmunologischen Grundlagen ausgehen, setzen in der Regel besondere Oberflächeneigenschaften der Zelle, bzw. die Synthese "tumorspezifischer" "fremder" Proteine, bzw.Glykoproteide voraus. Diese Proteine oder Oberflächendeterminanten werden gemeinhin als "Tumorantigene" bezeichnet. Ausgehend von ihren biologischen Eigenschaften werden die Tumorantigene grob in "tumorspezifische Transplantationsantigene"(TSTA) und sogenannte "tumorassoziierte Antigene" (TAA) unterteilt.

2.1.1. Tumorspezifische Transplantationsantigene (TSTA)

TSTA sind stets membrangebunden und spezifisch für den malignen Zustand der Zelle. Sie dürfen auf normalen Zellen nicht existieren oder gefunden werden. Sie werden als TSTA bezeichnet, da sie zu Abwehrreaktionen führen, die dieselben Gesetzmäßigkeiten zeigen wie die Transplantatabstoßungsreaktionen. Die Entstehung solcher TSTA ist entweder möglich durch Neubildung (=Neoontigene) oder aber durch den Verlust von Zellmaterial (Deletion). TSTA können unabhängig von der Individualspezifität des Tumorträgers der TSTA anderer Individuen absolut entsprechen, wenn die Tumoren z.B. durch dasselbe Virus verursacht worden sind. Meistens sind die TSTA jedoch tumor- oder individualspezifisch. Ihre Existenz konnte im Tiermodell gesichert werden- bisher noch nicht beim Menschen.

2.1.2. Die sogenannten tumorassoziierter Antigene (TAA)

Da Tumorantigene per definitionem neue Antigene darstellen, gehören zum Beispiel das carcinoembryonale Antigen (CEA) und das Alpha-Fetoprotein (AFP) nicht zu den Tumorantigenen im strengeren Sinn, sondern zur Gruppe der TAA, da sie auch im gesunden Individuum (vor allem während der Embryonalzeit) vorkommen (78) und nur bei bestimmten Tumoren in erhöhter Konzentration nachweisbar sind. Zwischen TSTA und TAA besteht insofern ein funktioneller Unterschied, als TAA definitionsgemäß nicht als Transplantationsantigen (wie z.B. die HLA oder TSTA-Antigene bei Transplantattumoren) wirken können und damit keine immunologische Tumorabstoßung herbeiführen können.Embryonale Antigene sind deshalb in der Regel nicht immunogen, da sich wahrscheinlich während der Embryonalzeit eine Toleranz aufgebaut hat, die dann bei Erwachsenen durch minimalste Konzentrationen aufrechterhalten bleibt.
Die tumorassoziierten Antigene werden in der Regel in den Ribosomen synthetisiert und zum Einbau in die Zellmembran an die Zelloberflächen transportiert. Bleiben sie in die Zellmembranen gebunden, so läßt sich daraus kein direkter klinisch chemischer Krebstest konstruieren, da sie sich einem Nachweis im Plasma entziehen. Treten dagegen tumorassoziierte Antigene ins Plasma über, weil sie eigentlich "Inkretproteine" sind, oder weil sie zufällig beim Einbau in die Zellmembranen oder beim Untergang von Zellmembranen ins Plasma gelangen, so läßt sich daraus ein immunologisches Testsystem zu deren Erkennung konstruieren. Dazu ist allerdings eine möglichst hohe Reinigung des Tumorantigens zur Erzielung spezifischer Antikörper erforderlich.

2.2. $ß_2$-Mikroglobulin

2.2.1. Physikalisch-chemische Eigenschaften

Die Isolierung von $ß_2$-Mikroglobulinen erfolgte erstmals 1968 durch BERGGARD und BEARN (8) aus dem Urin von Patien-

ten mit Morbus Wilson, bzw. von Patienten mit chronischer Kadmiumvergiftung. Die Isolierung erfolgte in mehreren Schritten und umfaßte Gelchromatographie, Ionenaustauschchromatographie und Zonenelektrophorese. (Übersicht 118) $Beta_2$-Mikroglobulin besteht aus einer Polypeptidkette von 100 Aminosäuren, deren Sekundärstruktur von einer Disulfidbrücke gebildet wird und hat ein Molekulargewicht von 11800 Dalton. Es hat einen molekularen Extinktionskoeffizienten von 19850 (pH 7 bei 280 nm), einen Stickstoffgehalt von 16,3% und einen Stockesschen molekularen Radius (r_s) von 16 A . $Beta_2$-Mikroglobulin liegt als mäßig hydriertes, sphärisches Protein vor, ist frei von Kohlehydrat und Lipid und besitzt keine freien Sulfhydrilgruppen .(4 1931)

2.2.2. Vorkommen von $ß_2m$

Man findet es in den meisten Körperflüssigkeiten, wie Serum, Urin, Liquor, Speichel und Amnionflüssigkeit in niedrigen Konzentrationen. (9, 36, 37, 55, 63, 143). $Beta_2$-Mikro - globulin wurde mit verschiedenen Methoden auf den Zellmembranen vieler Körperzellen wie auch in Thrombozyten, mononukleären und polynukleären weißen Blutzellen nachgewiesen, nicht jedoch in Erythrozyten. (111). Die $ß_2m$-Synthese erfolgt hauptsächlich durch lymphoide Zellen, jedoch auch durch eine Vielzahl normaler und maligner mesenchymaler und epithelialer Zellen, wie z.B. verschiedene Karzinomzellen, Myelomzellinien und Sarkomzellen.

2.2.3. Beziehung von $ß_2m$ zum Immunsystem

In den letzten Jahren ist dieses Protein für die immunologische Grundlagenforschung als besonders interessant erkannt worden und zwar wegen seiner auffälligen strukturellen Homologie zu den Immunglobulinen und seiner Assoziation mit den HLA-Antigenen (siehe 2.2.3.2.). Auf diese beiden auffälligen Befunde wird im folgenden noch genauer eingegangen.

2.2.3.1. Strukturelle Verwandtschaft mit menschlichem IgG

Die strukturelle Verwandtschaft wurde von mehreren Gruppen

beschrieben und durch verschiedene Hypothesen zu erklären versucht.

a) SMITHIES und POULIK bestimmten 1972 eine partielle Aminosäuresequenz von $ß_2m$ (130). Ein Vergleich der 99 bestimmten Aminosäurereste mit der konstanten Region der H-Kette (H = heavy) eines IgG_1 - Myelomproteins zeigt, daß mehr als 50 % der untersuchten Aminosäureresiduen der Sequenz der Gamma - H - Kette des IgG - Myeloms entsprechen. Besonders hervorstechend ist die Homologie zur carboxyterminalen Region des Moleküls. Die Autoren vermuteten, daß $ß_2m$ von einem anzestralen Immunglobulin abstammt und sehen es somit als Relikt eines ursprünglich sehr einfachen Immunsystems. (59, 130).

b) PETERSON et al. bestimmten die komplette Aminosäuresequenz des Globulins (Abb.1) und verglichen ebenfalls die strukturellen Homologien zur konstanten Region des IgG-Moleküls, sowie den Kappa- und Lambda-L (L= light) Ketten und fanden 27 der hundert $ß_2m$ Aminosäurereste homolog zur CH_3- Domäne des IgG Moleküls. (111). Sie kamen zu der Theorie, daß $ß_2m$ und die Immunglobuline von einem gemeinsamen Vorläufergen abstammen, wobei die evolutionäre Trennung vor der Gendublikation stattgefunden haben mußte.

ABBILDUNG 1

1 10
Ile-Gln-Arg-Thr-Pro-Lys-Ile-Gln-Val-Tyr

11 20
Ser-Arg-His-Pro-Ala-Glu-Asn-Gly-Lys-Ser

21 30
Asn-Phe-Leu-Asn-[Cys]-Tyr-Val-Ser-Gly-Phe

31 40
His-Pro-Ser-Asp-Ile-Glu-Val-Asp-Leu-Leu

41 50
Lys-Asp-Gly-Glu-Arg-Ile-Glu-Lys-Val-Glu

51 60
His-Ser-Asp-Leu-Ser-Phe-Ser-Lys-Asp-Trp

61 70
Ser-Phe-Tyr-Leu-Leu-Tyr-Ser-Tyr-Thr-Glu

71 80
Phe-Thr-Pro-The-Glu-Lys-Asp-Glu-Tyr-Ala

81 90
[Cys]-Arg-Val-Asn-His-Val-Thr-Leu-Ser-Gln

91 100
Pro-Lys-Ile-Val-Lys-Trp-Asp-Arg-Asp-Met

Komplette Aminosäuresequenz von β_2m nach
B.CUNNINGHAM,I.L.WANG,J.BERGGARD,A.PETERSON
Die Intrakettendisulfidbrücke ist am jeweiligen Cystinrest durch ein Kästchen markiert.

Somit kann $ß_2m$ als eine frei zirkulierende Immunglobulindomäne angesehen werden, die möglicherweise ähnlich wie die CH_3-Domäne des IgG-Moleküls immunologische Effektorfunktionen ausübt. (59). Es bestehen Gemeinsamkeiten in der Beziehung von $ß_2m$ und Immunglobulinen bezüglich der Komplement-Bindungsfähigkeit. (111). Trotz der Homologien reagiert aber $ß_2m$ nicht mit Antiseren gegen die Immunglobulinklassen G, A, M, oder gegen Fc- oder Fab-Fragmente. (140).

HÜTTENROTH et al. untersuchten die $ß_2m$-Synthese und Sekretion in Lymphozytenkulturen etablierter Zellinien in Relation zur Immunglobulin-Synthese und Sekretion. (61).
Nach ihren Arbeiten verhält sich die Sekretionsrate für $ß_2m$ im Vergleich mehrerer Zellinien relativ uniform und erweist sich als unabhängig von der Immunglobulinsekretion. Daher liegt der Schluß nahe, daß die Synthese von $ß_2m$ und Immunglobulin unter unterschiedlicher genetischer Kontrolle steht.

2.2.3.2. Beziehung von $ß_2m$ zu HLA-Antigenen

a) Chemische Struktur der HLA-Antigene
HLA-Antigene können aus menschlichen Lymphozytenkulturen gewonnen werden. (23,99, 108). Hierzu werden die Zellen mechanisch zerstört und die Zellmembranen isoliert.Die Membranfraktionen werden mit Papain behandelt und ergeben lösliche Membranfragmente von 48 000 Dalton, gleichgültig welche HLA-Spezifität zur Isolierung herangezogen wird.Auf Grund unterschiedlicher elektrophoretischer Beweglichkeit können diese Membranfragmente in zwei Bestandteile zerlegt werden (107), wobei das eine ein Molekulargewicht von 33 000 Dalton, das andere ein Molekulargewicht von 11 000 Dalton besitzt. Eine Proteinkomponente des 33 000 Dalton-Fragmentes ist Träger der HLA-Spezifität.

b) $Beta_2$-Mikroglobulin und das HLA gemeinsame Teilfragment
Das 11 000 Dalton-Teilstück scheint allen HLA-Molekülen gemeinsam zu sein, während ihm HLA-alloantigene Eigenschaften fehlen. (87, 99). Deshalb hat man das kleine Fragment als "HLA-gemeinsames Teilfragment" bezeichnet. (99). Dieses

invariante kleine Polypeptid ist mit verschiedenen HLA-Antigenen assoziiert. (24, 93, 117, 134, 135). Diese Beobachtung und weitere Untersuchungen führten zu der Hypothese, daß alle HLA-Antigene tatsächlich aus zwei Untereinheiten bestehen: einem größeren Polypeptid als Träger der HLA-Spezifität und aus einem kleineren Protein konstanter Struktur, welches wahrscheinlich dem $ß_2m$ homolog ist (110,134,137) und durch ein nicht polymorphes Cistron kontrolliert wird. (53,114).
Das HLA-gemeinsame Teilfragment zeigt nämlich in den folgenden Punkten weitgehende Homologie zu $ß_2m$:

1.) praktisch gleiche Aminosäurezusammensetzung wie $ß_2m$
2.) Übereinstimmung der Aminosäuresequenzen in den ersten 24 Positionen
3.) fast identisches Molekulargewicht (kleines HLA-Fragment 11 000) $ß_2m$ 11 600 - 11 800
4.) Übereinstimmung in der elektrophoretischen Beweglichkeit
5.) gemeinsames Vorkommen auf der Zelloberfläche
6.) keine Kreuzreaktion mit Immunglobulin-Antiseren
7.) Produktion durch die gleichen Zellpopulationen

c) Topographische Beziehungen zwischen $ß_2m$ und HLA auf der Zellmembran

Nach diesen Erkenntnissen blieb die Frage offen, ob die beiden Polypeptidketten, die man nach Papain-Behandlung von Zellen gemeinsam in der Lösung vorfindet, auch auf der Zellmembran aneinander gebunden sind. Ebenso gut können die beiden Untereinheiten unabhängig voneinander durch Papain von der Zellmembran abgespalten worden sein oder vielleicht auch Produkte des Lösungsvorganges selbst sein. (23).
Um das zu klären, wurden Untersuchungen durchgeführt, die die topographische Beziehung zwischen Histokompatibilitäts- und anderen Antigenen der Zellmembran herzustellen versu - chen.(100). Da die meisten Membranproteine zur Zeit als bewegliche Einheiten in der flüssigen Lipiddoppelschicht der Zellmembran aufgefaßt werden und eine Änderung ihrer wahllosen Verteilung durch kreuzverbindende Wirkstoffe,

wie z. B. Antikörper herbeigeführt werden kann, wird versucht, Histokompatibilitätsantigene und $ß_2$m durch spezifische Antikörper zu polaren Kappen (sog.capping) zu aggregieren.
Hierbei kommt folgendes Prinzip zur Anwendung: Wenn nichtkreuzreaktive Antigene im gleichen Molekül oder der gleichen Struktur der Zelloberfläche miteinander verbunden sind, kann man erwarten, daß die Verteilung eines Antigens durch den entsprechenden Antikörper auch die Verteilung des zweiten Antigens bewirkt und umgekehrt. (100). So kann nach Capping von $ß_2$m mit Hilfe von Kaninchen-Anti-$ß_2$m und FITC Anti-Kaninchen-IgG die Lymphozytenmembran (73) nicht mehr durch die Anti-HLA-Seren außerhalb der bereits gebildeten $ß_2$m-Kappen angefärbt werden. Die einfachste Erklärung hierfür ist,daß HLA-Antigene und $ß_2$m auf der Zellmembran aneinander gebunden sind (86, 94, 116, 121, 131, 133, 137) und daß mit dem Capping von $ß_2$m auch gleichzeitig eine Wanderung der HLA-Antigene erfolgt. Umgekehrt wird aber nach der Verteilung von HLA-Antigenen mit Anti-HLA-Antikörpern nicht alles $ß_2$m an einem Pol zusammengefaßt, was zeigt, daß entweder nicht alles $ß_2$m an HLA-Antigene gebunden ist, oder aber,daß die HLA-Polypeptidketten nur locker an $ß_2$m gebunden werden und durch den Antikörper beim Wiederverteilungsprozeß abgetrennt werden. Somit scheint es also, daß nicht alle $ß_2$m-Moleküle fest mit HLA-Antigenen verknüpft sind. Erwiesen ist auch die enge Beziehung zwischen $ß_2$m und HLA-Antigenen auf der Lymphozytenmembran. Ähnliche und zusätzliche Ergebnisse wurden auch von anderen Autoren erzielt.(135). Bei der Behandlung menschlicher Lymphozyten mit Antiseren gegen $ß_2$m oder HLA-Antigen (61, 85, 122, 123, 124) und mit xenogenen Antilymphozytenseren zeigt sich:

1.) Anti-$ß_2$m-Antikörper aggregieren und entfernen HLA-Antigene vollständig von der Zellmembran, nicht jedoch die Strukturen, die mit Antilymphozytenseren reagieren.

2.) HLA-Antiseren aggregieren einen Teil der $ß_2$m-tragenden Strukturen, lassen aber andere unbeeinflußt.

3.) Antilymphozytenseren beeinträchtigen in keiner Weise HLA-Antigene oder $ß_2m$.

4.) Anti-$ß_2m$ und Anti-HLA-Seren hemmen die Antigenaktivierung von Lymphozyten, was durch Antilymphozytenseren nicht erreicht wird.

5.) Anti-$ß_2m$-Seren und Antilymphozytenseren wirken auf normale Lymphozyten mitogen.

Ergebnis dieser Untersuchung ist, daß $ß_2m$ ein Teil des zellmembrangebundenen HLA darstellt und daß Antigenstrukturen, die mit exogenen Antilymphozytenseren reagieren, auf der Zellmembran von HLA- und $ß_2m$-Molekülen getrennt sind. Capping von Immunglobulinen auf B-Lymphozyten entfernt weder HLA-Antigene noch $ß_2m$-Moleküle von der Zelloberfläche. Anti-$ß_2m$ blockiert nicht die Lyse durch Antilymphozytenserum und Antilymphozytenseren blockieren weder HLA-Antigene noch $ß_2m$. (115).

2.2.3.3. Funktion von $ß_2m$ im Immunsystem

Die eigentliche immunologische Funktion von $ß_2m$ ist noch unklar. Antikörper gegen $ß_2m$ inhibieren die mitogen-oder antigeninduzierte Lymphozytenproliferation sowie Responder- und Stimulatorzellfunktionen in der gemischten Lymphozytenkultur. (59). Eine direkte Rezeptorfunktion von $ß_2m$ ist nicht wahrscheinlich, da eine strukturelle Variabilität des $ß_2m$ nicht festgestellt werden konnte. Vielmehr könnte $ß_2m$ eine Rezeptor koordinierende Funktion auf verschiedene Rezeptorsysteme ausüben.

2.2.4. Bestimmungsmethoden für $ß_2m$

a) Allgemeines

Seit der Isolierung und Reindarstellung von $ß_2m$ durch BERGGARD (8) ist es möglich, spezifische Antiseren gegen $ß_2m$ zu isolieren. Kaninchen-Antiseren werden mit Erythrozyten, Serum oder polymerisiertem Globulin absorbiert.

Die Spezifität der gewonnenen Antiseren ist dadurch nachzuweisen, daß sie eine gemeinsame immunelektrophoretische Präzipitationslinie gegen Urin von Patienten mit tubulärer Proteinurie zeigen.

b) Testverfahren zum Nachweis von $ß_2m$

Im Prinzip stehen drei Verfahren zum Nachweis von $ß_2m$ zur Verfügung: Die einfache radiale Immundiffusion, der Lymphozytentoxizitätsinhibitionstest und die radioimmunologische Bestimmung.

b 1.) Mit der einfachen radialen Immundiffusion (112,125, 138) können bei Anwendung hochempfindlicher Immundiffusionsplatten noch $ß_2m$-Konzentrationen von 100 µg/l nachgewiesen werden.

b 2.) Der Lymphozytenoxizitätsinhibitionstest (42, 142), der auf der Kreuzreaktion des $ß_2m$-Antikörpers mit HLA-Antigenen beruht, ist zehnfach empfindlicher für eine routinemäßige Durchführung, aber zu aufwendig.

b 3.) Der Radioimmunoassay, erstmalig 1959/60 von BERSON und YALOW zur Messung von Insulin angewandt, hat sich im Laufe von 15 Jahren zu einer außerordentlich wertvollen quantitativen analytischen Methode zur Messung sehr geringer Substanzmengen entwickelt. Für $ß_2m$ liegt seine untere Nachweisgrenze bei 0,5 µg/l.
Die radiale Immundiffusionsmethode, mit der man zu Anfang $ß_2m$ in biologischen Flüssigkeiten (Serum, Urin, Liquor, Amnionflüssigkeit) quantitativ bestimmte, hat den Nachteil, daß die zu untersuchenden Proben wegen der geringen Konzentration des $ß_2m$ eingeengt werden müssen. Die Konzentrierung stellt eine zusätzliche Fehlerquelle bei der quantitativen Bestimmung dar. Daher ist heute der wesentlich empfindlichere Radioimmunoassay die Methode der Wahl.
Bei den bisher angewandten radioimmunologischen Methoden konkurriert radioaktiv markiertes $ß_2m$ mit unmarkiertem $ß_2m$ um die Bildung der Immunkomplexe. Die Erfassung

der Komplexe erfolgt entweder durch Präzipitation mit PEG, durch Copräzipitation mit einem zweiten Antikörper und durch Kopplung des Antikörpers an Sepharose oder als fester Phasentest an Sephadex. Diese Radioimmunoassays besitzen annähernd gleich hohe Empfindlichkeit.

2.2.5. Bisherige klinische Bedeutung der Bestimmung von $ß_2$m

Anfänglich war die radioimmunologische Bestimmung der $ß_2$m-Konzentrationen im Serum und Urin vor allem von Interesse bei der Lösung nephrologischer Fragestellungen: BUTLER und FLYNN (19) haben gezeigt, daß sich das Proteinausscheidungsmuster, das man bei tubulären Nierenschäden findet (44), wesentlich von dem bei primär glomerulären Nierenkrankheiten unterscheidet.

$ß_2$m wird ohne Einschränkung durch die glomeruläre Basalmembran filtriert, dann im proximalen Tubulus rückresorbiert und auch katabolisiert. (11, 120). Der Katabolismus und die Ausscheidung der Mikroproteine in der Niere sind auch heute nicht völlig geklärt. Die glomeruläre Filtration, tubuläre Reabsorption, peritubuläre Aufnahme und tubuläre Sekretion dürften mit unterschiedlicher Wertigkeit eine Rolle spielen.

Aus der bekannten Beziehung von $ß_2$m und Nierenfunktion (77) ist abzuleiten, daß die $ß_2$m-Serumkonzentration bei leicht bis mäßig eingeschränkter Nierenfunktion einen semiquantitativen Parameter des Glomerulumfiltrates darstellt, wobei es bereits bei einer Filtrationseinschränkung unter 80 ml/min , also noch im kreatininblinden Bereich zu einer deutlichen Erhöhung der $ß_2$m-Titer kommt. Bei grenzwertigem Kreatinin und Kreatininclearance kann die Bestimmung der $ß_2$m-Konzentration für eine frühzeitige Feststellung einer glomerulären Filtrationseinschränkung wertvoll sein. Da normalerweise die glomerulär filtrierten $ß_2$-Mikroglobuline im proximalen Tubulus völlig reabsorbiert werden, muß es bei tubulären Schädigungen zu einer erhöhten Aus-

scheidung kommen. Die Bestimmung der $ß_2$m-Ausscheidung im Urin und der $ß_2$m-Clearance erlauben eine Differenzierung zwischen tubulären und glomerulären Proteinurien. Bei primär tubulären Nephropathien werden im Urin hohe $ß_2$m-Konzentrationen gemessen. Die diagnostische Aussagekraft wird durch gleichzeitige Bestimmung der Albuminclearance erhöht. So bildet der Quotient von Albumin zu $ß_2$m bei ausgeprägter glomerulärer oder tubulärer Proteinurie einen jeweils sehr hohen oder sehr niedrigen Wert.

Mischt sich der Typ der Proteinurie wie z.B. bei chronischer Pyelonephritis oder auch interstitieller Nephritis, so nähert sich der Quotient dem von gesunden Personen. Zwischen Serum $ß_2$m-Konzentration und Serum-Kreatinin besteht bei leicht bis mäßig eingeschränkter Nierenfunktion eine deutliche Korrelation, die im logarithmischen Maßstab aufgetragen, linear erscheint.

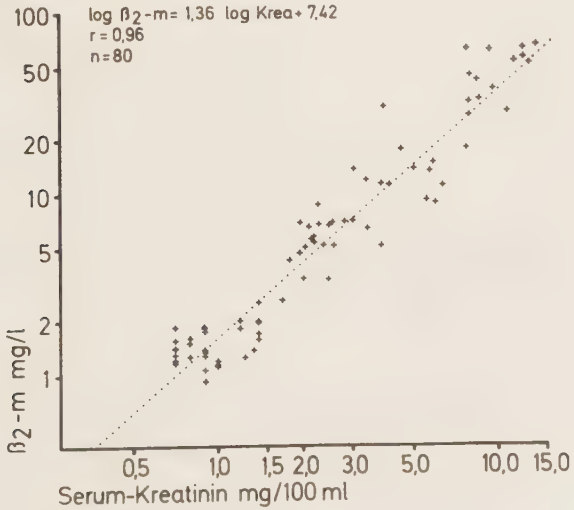


ABBILDUNG 2: Korrelation zwischen Kreatinin und $ß_2$m im Serum (logarithmische Auftragung)
(FATEH -MOGHADAM, 1978)

Bei Einschränkung der glomerulären Filtrationsrate kommt es im Gegensatz zu Proteinen mittlerer Molekulargröße wie Albumin und IgG zum Anstieg der $ß_2$m-Konzentration und anderer niedermolekularer Proteine im Serum. Das Produkt aus Glomerulumfiltrat und Serum-$ß_2$m-Konzentration ist bei mäßig vermindertem Filtrationsvolumen konstant und damit auch die im Primärharn anfallende $ß_2$m-Menge. Gemessen an der endogenen Kreatininclearance (9), steigt die $ß_2$m-Konzentration im Serum mit zunehmender Filtrationseinschränkung exponentiell an.

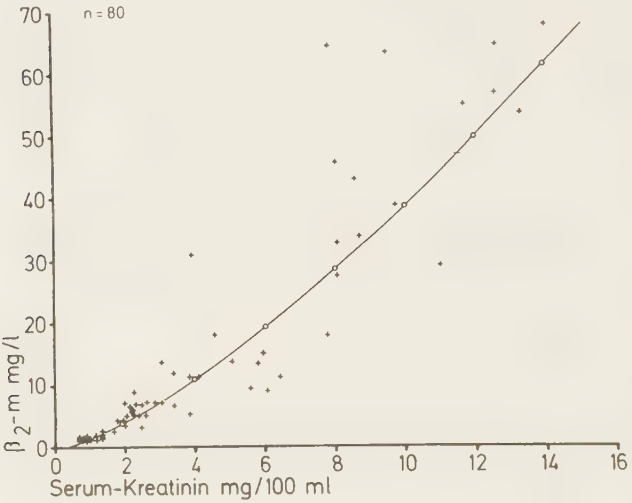


ABBILDUNG 3 : Korrelation zwischen Kreatinin und $ß_2$m im Serum (FATEH-MOGHADAM, 1978)

Pathologische $ß_2$m-Werte treten bei Filtratvolumina unter 65 ml/min auf. Bis zu einem gewissen Grad der glomerulären Filtrationseinschränkung ist die im Primärharn anfallende $ß_2$m-Menge konstant. Obwohl der Plasmaumsatz von niedermo-

lekularen Proteinen bei stark eingeschränkter Nierenfunktion eher erniedrigt ist, kommt es bei höheren Konzentrationen von Serum-$ß_2$m (4-5 mg/l) zu einer erhöhten Ausscheidung von $ß_2$m im Urin. Da eine tubuläre Sekretion auszuschließen ist, muß es bei stärkerer Einschränkung der glomerulären Filtrationsrate zur Einschränkung der tubulären Funktion kommen. Unter diesem Gesichtspunkt erscheint die Bewertung der Tubulusfunktion durch die Bestimmung von $ß_2$m im Urin nur sinnvoll, wenn das Glomerulumfiltrat nur leicht oder nicht eingeschränkt ist. Ohne Kenntnis der Serum-$ß_2$m-Konzentration und des Glomerulumfiltrates -zumindest des Serum-Kreatinins- sollten aus der $ß_2$m-Konzentration im Urin allein keine Rückschlüsse auf die tubuläre Funktion gezogen werden.

Von zunehmendem klinischen Interesse wurde in jüngerer Zeit auch das Verhalten von $ß_2$m bei malignen Erkrankungen. Relativ hohe $ß_2$m-Spiegel fand man bei Patienten mit gewissen Neoplasien auch ohne glomeruläre Filtrationseinschränkung.
Unter den malignen Systemerkrankungen des hämopoetischen Systems zeigen Patienten mit Non-Hodgkin-Lymphomen besonders häufig erhöhte Serum-$ß_2$m-Spiegel. Bei Patienten mit Hodgkin-Lymphomen findet man entweder keinen oder nur in späteren Stadien einen $ß_2$m -Anstieg.
Die bisher durchgeführten Untersuchungen, besonders die von der Arbeitsgruppe von COOPER (21 a), zeigen eine gewisse Korrelation zwischen der $ß_2$m-Konzentration und der chronisch-lymphatischen Leukämie. Bei Progression des Leidens wurde ein Anstieg, bei Remission ein Abfall beobachtet.
Das Studium des Verhaltens des Globulins bei soliden Neoplasien ist Thema dieser Arbeit und die Ergebnisse werden nachfolgend im Vergleich mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen dargestellt werden, die bereits in großem Umfang $ß_2$m-Bestimmungen bei den verschiedensten epidermalen und mesenchymalen Karzinomen durchgeführt haben.

2.3. Carcinoembryonales Antigen (CEA)

Im Folgenden wird etwas kürzer als für das noch unbekanntere $ß_2m$ auf die bereits seit längerem bekannten und klinisch angewandten Eigenschaften, das Vorkommen, die Bestimmungsmethoden und die klinische Bedeutung des CEA eingegangen.

2.3.1. Physikalisch-chemische Eigenschaften von CEA

CEA ist ein Glykoprotein von elektrophoretischer Beta-Mobilität und einem Molekulargewicht zwischen 150 000 und 200 000. Es ist relativ hitzestabil, nicht lipoider Natur und enzymaktiv. Sein Kohlehydratgehalt liegt zwischen 50 und 73 %, sein Proteingehalt entsprechend zwischen 25 und 50 %.
HUGHES (Übersicht bei FATEH,78) berichtete als erster über pH-abhängige Veränderungen im CEA-Molekülaufbau.
Die Angaben über die Sedimentationskonstante schwanken stark, liegen aber größtenteils zwischen 6,8 und 8,5.
Die N-terminale Aminosäuresequenz (24 Aminosäuren) wurde 1972 von TERRY et al. (Übersicht bei FATEH,78) an CEA aus Lebermetastasen bestimmt und spricht wegen konstanter Befunde für eine homogene Polypeptidkette des CEA. Der sonst biologischen Homogenität von CEA-Molekülen scheint eine metabolische Heterogenität gegenüberzustehen, wie Sequenz-Stoffwechseluntersuchungen von humanem CEA im Kaninchen-Hund-System vermuten lassen.

2.3.2.u.3. Vorkommen von CEA und seine Beziehung zum Immunsystem

CEA wurde bereits 1965 von GOLD und FREEDMAN (51,52) in Adenocarcinomen des Colons als "Tumor"- und "Organspezifisches" Antigen beschrieben. CEA ist ein $Beta_1$-Glykoproteid, das im Embryonalleben vorwiegend im Gastrointestinaltrakt und Pankreas als Zelloberflächen-Antigen gefunden und auch in Körperflüssigkeiten sezerniert wird.

Nach Ansicht von Gold und Freedman entsteht CEA nach Depression embryonaler Gene und fehlt im normalen Erwachsenengewebe, während es nach HANSEN (87) schon nach Gewebszerfall von normaler Schleimhaut und Freisetzung zellulärer Proteine im Blut erscheint. Beim gesunden Erwachsenen läßt sich ein sehr niedriger Serumspiegel nachweisen.
Des weiteren wurde CEA im Stuhl, Mekonium, Sputum, Speichel und Urin nachgewiesen. Es findet sich auch in Gewebekulturen von CEA-positiven Karzinomen.

Viele Autoren vermuten eine antigenetische Verwandtschaft des komplexen CEA-Moleküls mit ABH-Blutgruppensubstanzen. (Übersicht bei FATEH,78). Vor allem wird eine Beziehung zur Blutgruppensubstanz A diskutiert. Dies bringt zahlreiche Probleme beim Nachweis und der Reinigung des Glycoproteids vor allem auf Grund der vielfältigen Kreuzreaktionen von CEA auch mit anderen Substanzen. Es darf jedoch heute als gesichert gelten, daß es neben anderen eine spezifische CEA-Determinante auf dem CEA-Molekül gibt, gegen die sich spezifische Antiseren herstellen lassen.

2.3.4. Bestimmungsmethoden für CEA

Wegen der vor allem im Normalserum- bzw.plasma sehr niedrigen CEA-Konzentration im Nanogramm ml-Bereich eignen sich neben den üblichen Immunodiffusionsmethoden und dem Hämagglutinations Hemmtest ; (Empfindlichkeit 2-5 ng/ml) vorwiegend radioimmunologische Methoden, also der Radioummunoassay, der heute in drei Verfahren (Präzipitation durch Ammoniumsulfat, Z-Gel oder zweiten Antikörper) angewandt wird. Je nach Methode liegen die oberen Grenzwerte für Normalpersonen in Serum,bzw.Plasma meist bei 2,5 (Ammoniumsulfat, Z-Gel),bzw. 12,5 (2.Antikörper) ng/ml. Die meisten Erfahrungen liegen mit der Z-Gel Technik nach HANSEN vor. (Übersicht bei FATEH, 78).(CEA-roche-Test +)

+ Roche Diagnostics Division of Hoffmann-La Roche Inc.
Nutley, New Jersey 07110

In neuerer Zeit stehen auch enzymimmunologische Bestimmungsmethoden zur Verfügung.

2.3.5. Klinische Bedeutung von CEA

Faßt man die bisherigen Befunde und klinischen Beobachtungen von CEA-Untersuchungen kritisch zusammen, so ist festzustellen: Die größten Schwierigkeiten ergeben sich bei der Interpretation von CEA-Spiegeln zur Frühdiagnose eines Malignoms. Da auch nach der Roche-Studie (57) bei rund der Hälfte aller Colon-Karzinomträger normale bis geringfügig erhöhte CEA-Spiegel vorkommen, ist der Prozentsatz falschnegativer Befunde relativ hoch. Hinzu kommt einschränkend die bereits oben erwähnte unspezifische Erhöhung der CEA-Werte bei starken Rauchern, Entzündungen im Bereich des Magen-Darm-Traktes, sowie bei Lebercirrhose und alkoholischer Pankreatitis. Andererseits kommen CEA-Plasma-Spiegel über 20 ng/ml fast nur bei einem Viertel der Darmkrebspatienten sowie beim Pankreaskarzinom vor. (57).
Im Gegensatz zu dieser gegenwärtig eingeschränkten diagnostischen Wertigkeit hat die serienmäßige CEA-Bestimmung für die Verlaufskontrolle und prognostische Beurteilung maligner Prozesse große Bedeutung. Bei chirurgisch behandelten Patienten muß es bei vollständiger Tumorresektion spätestens vier Wochen nach Operation zu einem Abfall des CEA-Spiegels in den Normbereich kommen. Erhöhte CEA-Werte nach diesem Zeitraum weisen auf eine unvollständige Resektion bzw.auf eine bereits eingetretene Tumorausbreitung hin.
Diese bei vollständiger Tumorentfernung einsetzende Kinetik des CEA-Spiegels eröffnet die Möglichkeit, über wiederholte Kontrollen des CEA-Spiegels ein erneutes Tumorrezidiv, bzw. eine eintretende Metastasierung im Vergleich zu den bislang üblichen klinischen Methoden frühzeitiger zu erfassen (146, 147, 148).

K A P I T E L 3

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Methodik und Statistik

3.1.1. Gewinnung und Lagerung der Proben für die Bestimmung von $ß_2$m und CEA

Zur Untersuchung gelangten durch periphere Venenpunktion gewonnene Blutproben. Zur Untersuchung auf $ß_2$m sind zwar Serum-, Heparin- oder EDTA-Plasmaproben gleichermaßen geeignet, wegen der gleichzeitigen oder vorangegangenen Bestimmung von CEA kamen jedoch ausschließlich EDTA-Plasmaproben zur Verwendung. Die Proben wurden entweder sofort untersucht, oder konnten bis zu einer Woche bei + 4 C^{o} oder bis zu zwölf Monaten bei - 20 C^{o} gelagert werden.

3.1.2. Der "Phadebas $ß_2$-micro-Test"

$ß_2$m wurde hier radioimmunologisch mit dem "Phadebas $ß_2$-micro-Test" der Firma Pharmacia Diagnostics [+] bestimmt.

3.1.3. Prinzip der Methode

Im Prinzip handelt es sich hier um einen festen Phasentest, wobei als Trägermatrix für die kovalent gebundenen Anti-$ß_2$m-Antikörper spezielle Sephadex-Partikel dienen.
Um nun die $ß_2$m-Konzentration in einer Testprobe zu bestimmen, muß ermittelt werden, in welchem Ausmaß das $ß_2$m der Testprobe die im Testansatz vorhandenen Bin-

---

[+] Pharmacia Diagnostics AB,
Uppsala / Sweden

dungsstellen am Anti-$ß_2$m-Sephadex-Komplex besetzt. Das $ß_2$m der Testprobe konkurriert dabei um die Bindungsstellen mit J^{125} markierten $ß_2$m, welches jedem Testansatz in konstanter Menge zugesetzt wird. Es handelt sich also um eine kompetitive Verdrängungsanalyse am Anti-$ß_2$m-Sephadex-Komplex, welche dem Massenwirkungsgesetz gehorcht.

An einen festen Träger kovalent gebundener $ß_2$-Microglobulin-Antikörper vom Kaninchen (Sephadex Anti $ß_2$-Mikroglobulin-Komplex)	$ß_2$-Microglobulin der Probe

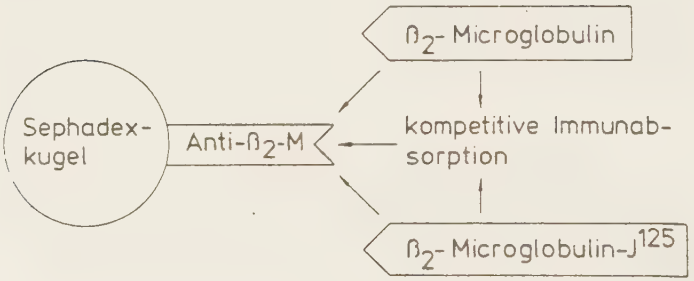


ABBILDUNG 4: Prinzip des RIA zur Bestimmung von $ß_2$m

Im gleichen Testansatz wird parallel eine Eichserie geführt, die aus einer Verdünnungsreihe eines $ß_2$m-Standards von bekanntem Gehalt an $ß_2$m erstellt wird. Das Ausmaß der Verdrängung in der Testprobe wird dann mit einer parallel laufenden Eichserie verglichen.

3.1.4. Praktische Durchführung des Phadabas $ß_2$-micro-Tests

Im Testgang werden zunächst die Proben mit einer konstanten Menge $ß_2$m - J^{125}-Lösung und eine Suspension der an Sephadex-Partikel gekoppelten Anti-$ß_2$m-Antikörper (Sephadex-Anti-$ß_2$m-Komplex) gemischt und während mindestens drei Stunden bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubiert. Anschließend werden (Komplex-) gebundenes und freies $ß_2$m durch Zentrifugieren getrennt und das im Überstand verbleibende freie $ß_2$m verworfen. Der Bodensatz enthält den an Sephadex-Partikel gebundenen Immunkomplex. Die darin enthaltene Radioaktivität wird gemessen. Der Gehalt an radioaktiv markiertem $ß_2$m im Bodensatz variiert invers mit der $ß_2$m-Konzentration in der Probe und der des Eichstandards.

3.1.4.1. Notwendige Laborgeräte und Reagenzien

Folgende Laborgeräte und Reagenzien waren für die Durchführung des Tests notwendig:

	Anzahl	Größe
Becherglas	1	500 ml
Meßzylinder	1	500 ml
Vollpipetten	2	2,0 u.10,0 ml
Meßpipette	1	10 ml
Mikroliter-Pipetten mit Plastik-Spitzen	3	50,100,1000 ul
Repetierspritze	1	2,0 ml
Teströhrchen (Polystyrol) mit Rundboden	75	ø ca.12 x 60 mm
Plastikstopfen für Teströhrchen	52	
Teströhrchen für Vorverdünnungen d.Proben	18	etwa 3 ml und 15 ml

Als zusätzliche Laborausrüstung wurde benötigt:
Ein Vibrations-Mischer, ein Magnetrührer, Rührstäbchen, eine Zentrifuge (für 2000 x g), eine Absaugnadel mit ver-

stellbarem Anschlag an einer Vakuum- oder Wasserstrahlpumpe angeschlossen, wobei der Anschlag der Absaugnadel so zu justieren war, daß nach dem Absaugen etwa 5 mm Flüssigkeitsüberstand in den Teströhrchen verblieb. Ferner brauchte man einen Gammazähler+ für 125 Jod sowie Aquabidest und 0,9 % Kochsalzlösung.

Reagenzien

In jedem Phadebas-$ß_2$-micro-Test waren Reagenzien enthalten, die für 50 Ansätze in Teströhrchen ausreichten. Damit ließen sich 18 Patientenproben in Doppelbestimmungen untersuchen. Ein Testansatz enthielt folgende Komponenten:

a) Sephadex-Anti-$ß_2$-Mikroglobulin-Komplex mit Antikörpern aus Kaninchen, lyophilisiert

b) $ß_2$-Mikroglobulin-Standard, 192 ng $ß_2$m, 96/ug /l nach Rekonstitution, kalibriert gegen $ß_2$m (wie von BERGGARD u.BEARN (8) beschrieben), lyophilisiert

c) $ß_2$m - J^{125}, ~ 33 ng; ~ 3,1/uCi (am Herstellungstag), lyophilisiert

d) Tween-Lösung, 6 ml

e) Puffersubstanz, 6,3 g, trockenes Pulver

Reagenzien aus Phadebas-$ß_2$-micro-Tests unterschiedlicher Chargen-Nummern sollen nicht miteinander ausgetauscht werden.

3.1.4.2. Ansetzen der Reagenzien für den Test

Suspension des Sephadex-Anti-$ß_2$-Mikroglobulin-Komplexes:
Der Sephadex-Anti-$ß_2$-Mikroglobulin-Komplex wurde mit 5,0 ml redestilliertem Wasser und 1,0 ml der Tween-Lösung versetzt und auf dem Magnetrührer suspendiert.

+ LKB, Stockholm/ Schweden, WALLAC 1280, ULTRAGAMMA

$ß_2$-Mikroglobulin-Standard-Lösung

Der lyophilisierte $ß_2$-Mikroglobulin-Standard wurde durch Zugabe von 2,0 ml redestilliertem Wasser rekonstituiert. Nach dem Ansetzen sollte die Lösung etwa eine Minute stehenbleiben und erst dann gemischt werden. Die so gewonnene Stammlösung enthielt 96 ug $ß_2$-Mikroglobulin/l.

$ß_2$-Mikroglobulin - J^{125}-Lösung

Das lyophilisierte $ß_2$-Mikroglobulin - J^{125} wurde durch Zugabe von 5,5 ml redestilliertem Wasser rekonstituiert.

Pufferlösung

Die Puffersubstanz wurde in 300 ml redestilliertem Wasser gelöst und die restliche Tween-Lösung (5 ml) zugesetzt. Die erhaltene Pufferlösung hatte einen pH-Wert von 7,4.

3.1.4.3. Ansetzen der Eichlösungen

Aus der rekonstituierten $ß_2$m-Standard-Lösung (s.o.) mit einem $ß_2$m-Gehalt von 96 /ug/l als Stammlösung wurden durch eine Verdünnungsreihe mit Puffer gemäß folgendem Schema Eichlösungen der Endkonzentrationen 96, 48, 24, 12, 6 und 3,0 /ug $ß_2$-Mikroglobulin/l hergestellt.

Eichlösung	Konz. /ug/l	Zugabe von: Puffer ml	Standart od. Eichlösungen ml	Endvolumen ml
A (Stammlösung)	96	-	-	1,0
B	48	1,0	1,0 von A	1,0
C	24	1,0	1,0 von B	1,0
D	12	1,0	1,0 von C	1,0
E	6	1,0	1,0 von D	1,0
F	3	1,0	1,0 von E	2,0
G "leer"	0	1,0	-	1,0

3.1.4.4. Verdünnung der zu untersuchenden Proben

Serum, bzw. Plasma-Proben mußten vor dem Test mindestens auf das 200-fache mit Puffer (s.u.) verdünnt werden. In der Regel pipettierte man 50 µl Probe zu 10 ml Puffer. Falls höhere Werte zu erwarten waren, war entsprechend höher- so eventuell bis zum 1000-fachen zu verdünnen - und zwar zweckmäßigerweise in mehreren Verdünnungsschritten.

3.1.4.5. Testgang

Für den Test wurden Plastikröhrchen mit Rundboden und Mikropipetten mit Plastikspitze verwendet. Die Teströhrchen wurden entsprechend dem Testschema beschriftet und in Ständern aufgestellt. Alle Proben wurden als Doppelbestimmung durchgeführt. Ergebnisse mit mehr als 5 %iger Abweichung zwischen den Doppelbestimmungen wurden eliminiert und wiederholt. In jedem Testgang wurde eine eigene Eichserie mitgeführt (Herstellung wie oben beschrieben).

a) Von den angefertigten Eichlösungen A-G (siehe Schema) wurden jeweils 100 µl in die Teströhrchen Nr. 1 - 14 pipettiert.

b) Von den zu bestimmenden Proben (Serum oder Urin) wurden jeweils 100 µl in die Teströhrchen ab Nr. 15 pipettiert.

c) Nun wurden in alle zum Ansatz gehörenden Teströhrchen mit einer Mikro-Pipette je 100 µl der $ß_2m - J^{125}$ -Lösung pipettiert. Dabei war darauf zu achten, daß die Röhrchenwand nicht mit Aktivität kontaminiert wurde. Im gleichen Arbeitsgang wurden in zwei mit T_1 und T_2 bezeichnete Teströhrchen ebenfalls 100 µl der $ß_2m$-J^{125}-Lösung pipettiert und die Röhrchen sofort verschlossen und beiseite gestellt, da die Röhrchen $T_{1,2}$ später nur im γ-Counter + für die Ermittlung der pro

+ LKB, Stockholm/Schweden, WALLAC 1280 ULTRAGAMMA

Testansatz total eingesetzten Aktivität benötigt wurde.

d) In jedes der mit Eichlösung oder Probe versetzte Röhrchen wurden jeweils 100 µl der Suspension des Sephadex-Anti-$ß_2$-Mikroglobulin-Komplexes pipettiert. Um gleichmässige Konzentrationsverhältnisse aufrechtzuerhalten, mußte während der Entnahme die Sephadex-Suspension ständig mittels Magnetrührer gerührt werden. Dabei erwies es sich als zweckmäßig, auf dem Magnetrührer einen Fläschchenhalter zu verwenden.

e) Nach sorgfältigem Durchmischen wurden die Röhrchen verstöpselt und auf einem Rotationsmischer während mindestens drei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert.

f) Nach beendeter Inkubation wurden alle Teströhrchen ab Nr.1 (ausgenommen $T_{1,2}$) mit Hilfe einer Repetierspritze mit je 2 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung versetzt und anschliessend zwei Minuten lang bei 2000 x g zentrifugiert.

g) Der Überstand wurde bis auf einen Rest von etwa 5 mm über dem Röhrchenboden abgesaugt, ohne dabei vom Bodensatz etwas mit zu entfernen. Dazu wurde die Absaugnadel mit dem verstellbaren Anschlagring benutzt, die an eine Wasserstrahl-Vakuum-Glocke angeschlossen war.
Der gesamte Waschprozeß war insgesamt zweimal in gleicher Weise zu wiederholen. Die Teströhrchen blieben dabei zweckmäßigerweise in den Zentrifugeneinsätzen. Anschließend wurden die Röhrchen wieder zugestöpselt.

h) Nun wurde in allen Röhrchen ab Nr.1 im µ-Counter die verbliebene Radioaktivität gemessen, ebenso die Gesamtaktivität in den Röhrchen T_1 und T_2.

3.1.4.5. Auswertung des Tests

a) Aus den Zählraten (CR) wurden am Elektronenrechner "Wang" für jede Eichprobe die Prozentwerte (Y) der Radioaktivitätsbindung berechnet, wobei auf die mittlere Zählrate (MCR) der Leerprobe bezogen wird.
Der "Nulleffekt" brauchte von den Zählraten nicht gesondert subtrahiert werden, da dies im µ-Counter be-

reits vorher automatisch erfolgt war.

$$Y = \frac{\text{CR der Eichprobe}}{\text{MCR der Leerprobe}} \times 100$$

b) Die so für die Eichproben ermittelten Prozentwerte, aufgetragen gegen den Logarithmus der $ß_2$-Mikroglobulin-Konzentration ergaben eine Eichkurve. Diese Bezugskurve für die Auswertung wurde an der "Wang" [+] rechnerisch durch Polygonalinterpolation semilogarithmisch erstellt, wobei zur Sichtkontrolle die Bezugskurven geplottet wurden.

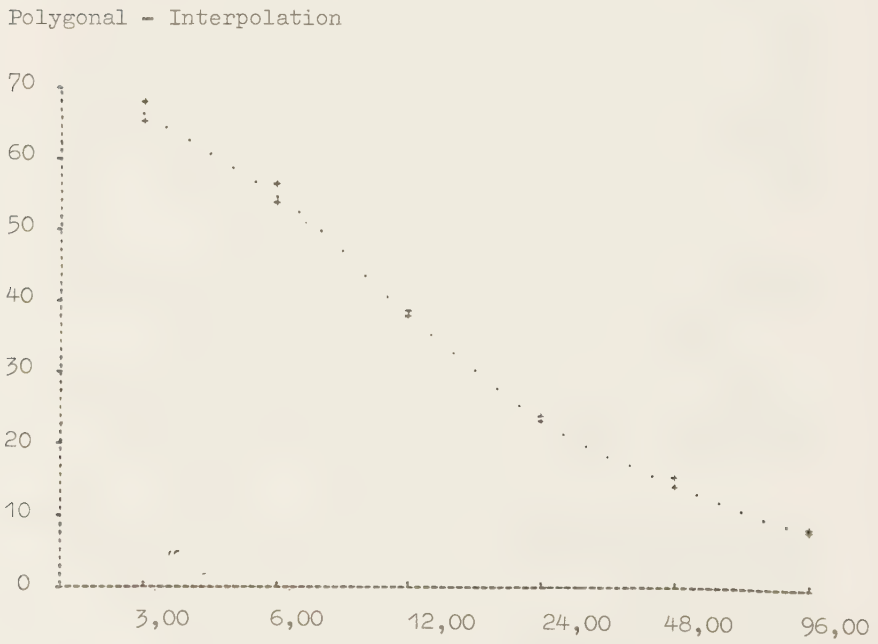


ABBILDUNG 5: Eichkurve zur Bestimmung der Konzentration an $ß_2m$

[+] WANG-Deutschland GmbH, Lyonerstrasse 36-38, 6000 Frankfurt 71

c) Wie für die Eichproben beschrieben, wurden nun die Zählraten (CR) jeder unbekannten Probe in den Rechner eingegeben und dort automatisch auf die mittlere Zählrate (MCR) der Leerproben bezogen und die Prozentwerte ausgerechnet. Dann wurde die $ß_2$-Mikroglobulin-Konzentration jeder zu bestimmenden Probe direkt in µg/l aus der Eichkurve abgegriffen und aus den Doppelbestimmungen der Mittelwert errechnet.

d) Die Eichkurve überdeckt den Bereich von 3-96 µg $ß_2$-Mikroglobulin /l. Entsprechend ergab sich für die bei normalen Serumproben empfohlene Verdünnung auf das Zweihundertfache ein Testbereich von 0,6-20 mg/l.Konzentrationen außerhalb dieser Bereiche ließen sich nach geeigneter Vorverdünnung ebenfalls messen. Als letztes mußte also der errechnete Wert noch mit dem jeweils im Versuchsprotokoll vermerkten Verdünnungsfaktor multipliziert werden.

3.1.4.7. Qualitätskontrolle des Phadebas $ß_2$-micro-Tests

Um die laufende Qualitätskontrolle der Tests zu garantieren, wurden pro Testansatz mindestens zwei Proben Phadebas-Referenz-Serum mit untersucht. Das Referenzserum enthält Human-$ß_2$-Mikroglobulin in bekannter Konzentration innerhalb des physiologischen Bereiches von 1,1 - 2,4 mg/l.
Der Referenzbereich der Proben war 0,84 - 2,39 mg/l,
die Intraassayvarianz : MW 1,48, SD 0,19, VK 12,8 %
bei n = 32.
Die Interassayvarianz betrug: MW 1,50, SD 0,20, VK 13,6 %
bei n = 12.

3.1.5. Bestimmung des carcinoebryonalen Antigens mittels des CEA (Roche)+ - RIA-Tests

3.1.5.1. Prinzip der Methode

CEA wurde aus dem Plasma extrahiert und mit spezifischem

+ROCHE DIAGNOSTICS, Division of Hoffmann-La-Roche Inc.Nutley/N.J.

CEA-Antiserum zur Reaktion gebracht. Hierauf wurde J^{125}-CEA zugegeben, das mit dem überschüssigen CEA-Antiserum reagiert.
Das an den Antikörper gebundene J^{125} - CEA wurde mit Hilfe von Zirkonyl-Phosphat-Gel (Z-Gel) von überschüssigem freien J^{125}-CEA abgetrennt und schließlich mit einem Gammaszintilationszähler bestimmt. Das Verhältnis von gebundenem zu freien J^{125}-CEA ist ein Maß für die ursprünglich im Plasma vorhandene Menge an CEA.

3.1.5.2. Reagenzien:

EDTA Buffer	pH 6,25 2 Fläschchen zu 15 ml Stammlösung enthaltend Rinderserumalbumin und 0,17 % Natriumazid als Konservierungsmittel. Steril.
CEA Standard	Aktivität:125 ng CEA/ml 1 Fläschchen zu 1,25 ml CEA in Natriumborat-Puffer, enthaltend 10 % Humanplasma der Blutgruppe A und Thimerosal 1:10 000 Steril.
Antiserum (goat)	Aktivität: 40 % Proteinbildung 1 Fläschchen zu 2,5 ml CEA-Antiserum, gewonnen aus Ziegenserum, adsorbiert mit Humanplasma der Blutgruppe A sowie Speichel von Personen der Blutgruppe A und verdünnt mit Natriumborat-Puffer, enthaltend Thimerosal 1: 10 000.Steril.
J^{125}- CEA	Aktivität: ca.50 ng/ml 1 Fläschchen zu 2,5 ml J^{125}-CEA in Natriumborat-Puffer, enthaltend 10 % Humanplasma der Blutgruppe A und Thimerosal 1:10 000. Nicht steril.
Zirconyl Phosphate Gel:	1 Flasche zu 250 ml Z-Gel in Acetat-Puffer (0,1 M Acetat)

pH 6,25, enthaltend Thimerosal 1:10 000. Nicht steril.
Z-Gel, das eingefroren worden ist, darf nicht verwendet werden, da beim Auftauen eine ungleichmäßig verteilte Dispersion entsteht,die rasch sedimentiert.

Goat Serum Ziegenserum für die direkte Methode zur Bestimmung von CEA-Titern über 20 ng/ ml.
1 Fläschchen zu 2,0 ml
Enthält Thimerosal 1:10 000. Steril.

Kontrollserum: Als Kontrolle dienten Extrakte aus menschlichem Serum, angereichert mit carcinoembryonalem Antigen. Jedes sterile Ampullenfläschchen enthält die angegebene Menge CEA in 2,0 ml Humanserum mit Thimerosal 1:10 000 als Konservierungsmittel. Der CEA-Gehalt jeder Charge Control Specimen wird nach der indirekten Methode bestimmt, und der gefundene Wert für jeden Aktivitätsbereich ist auf der Fläschchenetikette angegeben.

Control Specimen,Aktivitätsbereich 0-2,5 ng/ml
Control Specimen,Aktivitätsbereich 2,6-5,0 ng/ml
Control Specimen,Aktivitätsbereich 5,1-10,0 ng/ml
Control Specimen,Aktivitätsbereich $>$10,0 ng/ml
(Alle Chemikalien von der Firma Roche Diagnostica)

Als weitere Hilfsreagenzien dienen:

1.) Aqua purificata, Widerstand mindestens 1 x 10^6 Ohm, 2 l pro Probe.
2.) Perchlorsäure 1,2 M (mol/l) ca 0,25 l pro Kit
3.) Physiologische Kochsalzlösung ca 0,25 l pro Kit
4.) Ammoniumacetat-Lösung 0,01 M (mol/l), pH 6,5 $\pm$ 2 ca.20 l pro Kit
5.) Ammoniumacetat-Lösung 2,5 M (mol/l), ca.1 l pro Kit
6.) Ammoniumacetat-Lösung 0,1 M (mol/l), pH 6,25 $\pm$ 0,05 ca. 0,5 l pro Kit

Als Probe kam ausschließlich EDTA-Plasma zur Anwendung.Dabei

war zu beachten, daß Plasma von Patienten unter Heparintherapie oder heparinisiertes Plasma nicht verwendet werden darf, da Heparin die Genauigkeit der CEA-Bestimmung beeinflußt.

3.1.5.3. Praktische Durchführung des Tests

Die CEA-Bestimmung darf wegen interferierender Proteine und Elektrolyte nicht direkt im Plasma vorgenommen werden. Daher wurden Proteine mit Perchlorsäure 1,2 M ausgefällt und denaturiert und Säure sowie Elektrolyte anschließend durch Dialyse entfernt.

3.1.5.3.1. Vorgehen zur Plasmaextraktion mit Perchlorsäure und Dialyse

1.) In jedes Teströhrchen wurden im Doppelansatz 0,5 ml des Plasmas + 2 ml kalte (2-8 C^{o}) physiologische Kochsalzlösung gegeben und gemischt.

2.) Danach pipettierte man in jedes Röhrchen 2,5 ml kalte (2-8 C^{o}) Perchlorsäure 1,2 M, wobei sofort nach jeder Zugabe mit dem Vibrationsmischer für 30 sec.zu mischen war.

3.) Die Röhrchen wurden 20 Minuten bei ca.3000 U/min (1000 xg) zentrifugiert.

4.) Die Überstände wurden in angefeuchtete Dialyseschläuche dekantiert, jeweils zugebunden und in ein Bad verbracht, welches das 50 fache Volumen aller Proben an Aqua purificata enthielt. Während der gesamten automatischen pH-gesteuerten Dialyse (siehe 3.1.5.4.) wurde das Bad mittels gefilterter Luft gerührt und das Aqua purificata nach einer Dialysezeit von jeweils mindestens drei Stunden dreimal gewechselt. (Gesamtdialysezeit 12 -24 h).

5.) Danach wurden die Schläuche für mindestens drei Stunden und maximal 24 Stunden in ein Bad aus Ammoniumacetat-Lösung 0,01 M pH 6,5 mit dem 50 fachen aller Proben gebracht.

6.) Schließlich überführte man den Inhalt der Dialyseschläuche zur CEA-Bestimmung in Teströhrchen. Der pH-Wert der so behandelten Extrakte mußte 6,5 ± 0,2 sein. War dies nicht der Fall, so mußte die Dialyse mit neuer, genau auf pH 6,5 eingestellter Ammoniumacetat-Lösung wiederholt werden. Die CEA-Bestimmung hatte dann noch am gleichen Tage zu erfolgen.

3.1.5.3.2. Standard-Inhibitionskurve

Zu jeder Serie von Plasmaextrakten mußte gleichzeitig eine Standard-Inhibitionskurve aufgestellt werden.

1.) Fünf Paare von Teströhrchen wurden für den CEA-Standard beschriftet, wobei 0,10,25,50 und 100 µl des CEA-Standards eingesetzt wurden. Das entsprach einer CEA-Konzentration von 0, 1,25, 3,125, 6,25 und 12,5 ng.

2.) In jedes der Teströhrchen wurden 5 ml EDTA-Pufferlösung gegeben und anschließend in jedes Röhrchen die jeweils vorgesehene Menge CEA-Standard hinzugefügt.

3.) Der Inhalt aller Röhrchen wurde dann mit dem Vibrationsmischer gemischt.

3.1.5.3.3. Bestimmung des CEA-Gehaltes

In den nachfolgenden Schritten wurden die Röhrchen mit den Plasmaextrakten und diejenigen für die Erstellung der Standard-Inhibitionskurve genau gleich behandelt.

1.) In jedes Röhrchen wurde 25 µl Antiserum (Gout) pipettiert, gemischt und die Röhrchen dann während 30 ± 1 min.in ein thermostatisiertes (45 ± 1 C°) Wasserbad mit Umwälzung gestellt.

2.) Dann wurden die Röhrchen aus dem Wasserbad genommen und zu jedem 25 µl J^{125}-CEA pipettiert, gemischt und die Röhrchen nochmals für 30 ± 1 min in obiges Wasserbad verbracht.

3.) Nach dem Wasserbad wurde jedes Röhrchen sofort mit 2,5 ml Zirkonyl-Phosphat-Gel versetzt. Dabei war wichtig,

daß das Z-Gel jederzeit gut gemischt ist. (Automatisches Dosiergerät) und daß die Reaktion in allen Röhrchen praktisch gleichzeitig beginnt.

4.) Das Z-Gel wurde gut eingemischt und die Röhrchen dann sofort fünf Minuten bei ca. 3 000 U/min (1000 xg) zentrifugiert, danach der Überstand dekantiert und der Rand der Röhrchen mit Papiertüchern abgetrocknet.

5.) Als nächstes wurden 5 ml Ammoniumacetatlösung (0,1 M) in jedes Röhrchen gebracht und das Gel mit dem Vibrationsmischer vollständig dispergiert und anschließend 5 min bei 3 000 U/min (1000 xg) zentrifugiert.

6.) Der Überstand war wiederum zu dekantieren, der Röhrchenrand abzutrocknen und die Außenseite der Röhrchen abzuwaschen, um jede mögliche radioaktive Kontamination zu vermeiden.

7.) Nun wurde die Menge an J^{125}-CEA mit dem Gamma-Szintillationszähler bestimmt.

8.) Das Mittel der "Counts per minute" (CPM) von an Z-Gel gebundenen J^{125}-CEA wurde gegen die Menge Antigen in jedem Röhrchen als Standard-Inhibitionskurve aufgetragen. Doppelbestimmungen durften nicht um mehr als 5 % der CPM voneinander abweichen.

9.) Das Auftragen der CPM für die Standardinhibitionskurve erfolgte am Elektronenrechner "Wang", indem die entsprechenden Werte für Eichkurve und Proben in den Rechner eingespeist wurden. Die Standardinhibitionskurve wurde von der "Wang" unter Sichtkontrolle nach dem "RIA-Band" geplottet und die J^{125}-Meßwerte der Proben aus der Kurve automatisch abgegriffen.

3.1.5.3.4. Direkte Bestimmung von CEA-Titern über 20 ng / ml

(Die direkte Methode kam immer dann zur Anwendung, wenn vorher mit der indirekten Methode ein Titer über 20 ng/ml gefunden worden war. Hier wurde vor dem Test eine Proteinfällung vorgenommen.)

1.) Für jede Plasmaprobe wurden vier Teströhrchen vorgesehen- in je zwei der Röhrchen wurden dann 50 µl, bzw. 10 µl Plasma pipettiert und jedes Röhrchen anschließend mit 5 ml Ammoniumacetatlösung 0,01 M, pH 6,5 versetzt.

2.) 40 µl des "Goat"-Ziegenserums wurden zu jeder Plasmaprobe pipettiert.

3.) In fünf Paaren von Teströhrchen wurde der CEA-Standard als Eichstandard wie unter 3.1.5.3.2. (indirekter Test) angesetzt.

4.) Zu jedem Teströhrchen für den Standard wurden dann ebenfalls 5 ml Ammoniumacetatlösung 0,01 M, pH 6,5 + 50 µl Goat-Ziegenserum pipettiert.

5.) Nun wurden zu allen Röhrchen 25 ml Antiserum pipettiert, gemischt und während 30 ± 1 min im thermostatisierten Wasserbad mit Umwälzung bei 45 ± 1 C^{o} inkubiert.

6.) Nach der Inkubation kamen in jedes Röhrchen 25 µl J^{125}-CEA und nach Durchmischung wurde nochmals für 30 ± 1 min in obigem Wasserbad inkubiert.

7.) Dann wurden die Röhrchen wie beim indirekten Test mit Zirkonyl-Phosphat-Gel versetzt, zentrifugiert, dekantiert, mit Ammoniumacetatlösung 0,1 M vermischt und wiederum zentrifugiert.

8.) Weiters wurden die Röhrchen dann wie oben dekantiert und der Rand sorgfältig abgetrocknet, sowie die Außenseite abgewaschen. (Zur Vermeidung radioaktiver Kontamination.)

9.) Die in jedem Röhrchen verbliebene Menge an gebundenem J^{125}-CEA wurde wiederum im γ- Counter bei automatischer Nullwertsubstraktion ermittelt.

10.) Die Auswertung der "Counts per minute" für die Eichkurve und die Ermittlung der CEA Konzentration der Proben erfolgte wieder an der "Wang". (siehe 3.1.5.3.3. Punkt 9).

3.1.5.4. Fehlerquellen des CEA Tests

Sind die Ionenstärke oder das pH der für die Dialyse verwendeten Pufferlösung zu noch, so werden zu hohe CEA-Werte gemessen.
Umgekehrt werden bei zu geringer Ionenstärke oder zu tiefem pH zu kleine CEA-Werte gefunden.

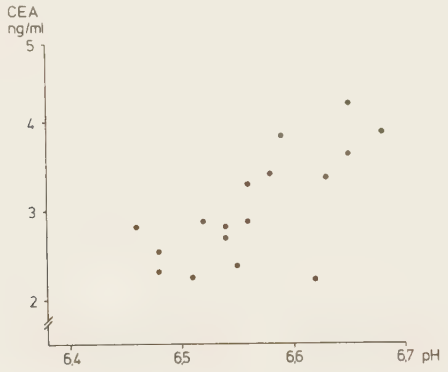


ABBILDUNG 6: CEA-Wert eines Poolplasmas in Abhängigkeit vom pH-Wert der Probe nach Dialyse

Aus diesem Grund war für die CEA-Tests am Institut für Klinische Chemie ein programmgesteuertes Dialysebadsystem entwikkelt worden. Das System besteht aus einem 65 x 35 x 25 cm großem Plexiglastank, einem Programmgeber, Puffervorratsflaschen und Meßgeräten für den pH-Wert der Dialyseflüssigkeit, bzw. Leitfähigkeit des zufließenden entionisierten Wassers. Der Dialysetank besitzt Anschlüsse für den Zulauf von entionisiertem Wasser und Pufferflüssigkeit bzw. für den Zustrom von Preßluft. Die Steuerung erfolgt über drei unabhängig voneinander einzustellende Zeituhren des Programmgebers, die die Zulauf,- Verweil - und Auslaufzeit der Dialyseflüssigkeit steuern. Die Zahl der Wechselschritte wird über eine Schaltuhr eingestellt, wobei vor dem letzten Wechselschritt von entionisiertem Wasser auf den Zulauf von Pufferflüssigkeit umgeschaltet wird.

Über ein H-förmig angeordnetes Rohrsystem wird das Bad mit Preßluft durchmischt.
Die Meßwerte für die Leitfähigkeit des entionisierten Wassers sowie der pH-Wert von Dialyseflüssigkeit und Probe werden fortlaufend über Punktschreiber registriert.
Durch diese Dialyseanordnung ließen sich die methodischen Fehler bezüglich pH und Ionenstärke erheblich reduzieren.
Weiters sind jedoch auch die Inkubationszeiten, insbesondere diejenigen mit J^{125}-CEA eine potentielle Fehlerquelle. So mißt man zu niedrige Plasma-CEA-Werte, wenn die Inkubationszeit für die Standards (=Inhibitionskurve) kürzer ist als die für Plasmaextrakte bzw. Plasma. (Indirekte, bzw.direkte Methode).
Umgekehrt erhält man zu hohe Plasma-CEA-Werte, wenn die Inkubationszeit für die Standards länger ist als die der Proben.

3.1.5.5. Qualitätskontrolle des CEA-RIA-Kits

Zur Kontrolle wurden bei jedem Test die definierten "Control Specimens" (s.o.) mitgeführt. Die untere Nachweisgrenze des CEA-"Roche"- RIA-Tests liegt bei etwa 0,5 ng/ml. Der Referenzbereich wurde auf 0 - 2,5 ng/ml festgelegt.
Die Intraassayvarianz unserer Tests betrug:
MW 2,8; SD 0,46; VK 16,4% bei n = 29.
Die Interassayvarianz war: MW 1,9; SD 0,9; VK 26,5 % bei n=16.

3.1.6. Bestimmung der Plasmakreatininwerte

Da bei Nierenerkrankungen eine Einschränkung der glomerulären Filtrationsrate mit einer Erhöhung des Serum $ß_2$m-Spiegels und einem Anstieg des Serumkreatinins einhergeht, (10, 62, 77, 146) wurde bei jeder Untersuchung gleichzeitig eine Kreatininbestimmung durchgeführt.
Sie erfolgte am SMA - 6 +(einem 6-Kanal-Autoanalyser) vollautomatisch.Die Ursachen für die erhöhte $ß_2$m-Konzentration bei eingeschränkter Nierenfunktion sind im Überblick unter 2.2.5. bereits ausführlich dargelegt worden.

+ SMA Instruments (USA)

2.4.7. Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung wurden insbesondere Prüfungen auf Abhängigkeit in entsprechenden Kontingenztafeln durchgeführt. Dabei wurden die Patienten nach der Diagnose in die Gruppen Pankreaskarzinom, Pankreatitis, Morbus Crohn und andere gastrointestinale Tumore aufgeteilt. Die Ergebnisse der $ß_2m$ - und CEA-Bestimmung wurden in solche unter und über der oberen Referenzbereichsgrenze geordnet, um entsprechend den möglichen Kombinationen vier Klassen zu bilden.
Darüberhinaus wurden die Patienten in Anlehnung an den Medianwert der Altersverteilung in eine Klasse unter und über 60 Jahre sowie nach dem Geschlecht klassifiziert. Untersucht wurden folgende Abhängigkeiten:

Diagnose und Wertmuster
$ß_2m$-Wert und Alter
$ß_2m$-Wert und Geschlecht
Alter und Diagnose.

Als Teststatistik wurde die asymptotisch, x^2-verteilte 2I-Statistik nach KULLBACK (75) verwendet. Alle statistischen Tests wurden auf dem Signifikanzniveau von 1 % durchgeführt. Zur Interpretation wurden als Maß für den Unterschied zwischen beobachteten und geschätzten Häufigkeiten in den Zellen der Kontingenztafeln die von KULLBACK und FISHER (76) verwendete Größe, der sogenannte "Outlier" herangezogen.
Zur weiteren Testung der differentialdiagnostischen Wertigkeit der gleichzeitigen Bestimmung von $ß_2m$ und CEA wurde für die Diagnosegruppen Pankreaskarzinom und chronische Pankreatitis zusätzlich die Diskriminanzanalyse durchgeführt, um festzustellen, mit welcher Irrtumswahrscheinlichkeit bei der Unterscheidung der beiden Krankheiten zu rechnen ist.

3.2. Untersuchtes Material

Untersucht wurden 317 Plasmaproben von 47 Patienten mit Pankreaskarzinom, 45 mit chronischer Pankreatitis, 80 mit anderen gastrointestinalen Tumoren, 31 mit Morbus Crohn, 17 mit Mamma-Karzinom, 15 mit verschiedenen anderen Karzinomen, 4 mit entzündlichen Darmerkrankungen und 78 von klinisch und laborchemisch gesunden Probanden.
Die Diagnosen waren durch Histologie eines Probenmaterials oder durch den Autopsie-Befund gesichert. Es handelte sich ausschließlich um nierengesunde Patienten mit normalen Serum-Kreatininwerten unter 115 mmol/l.

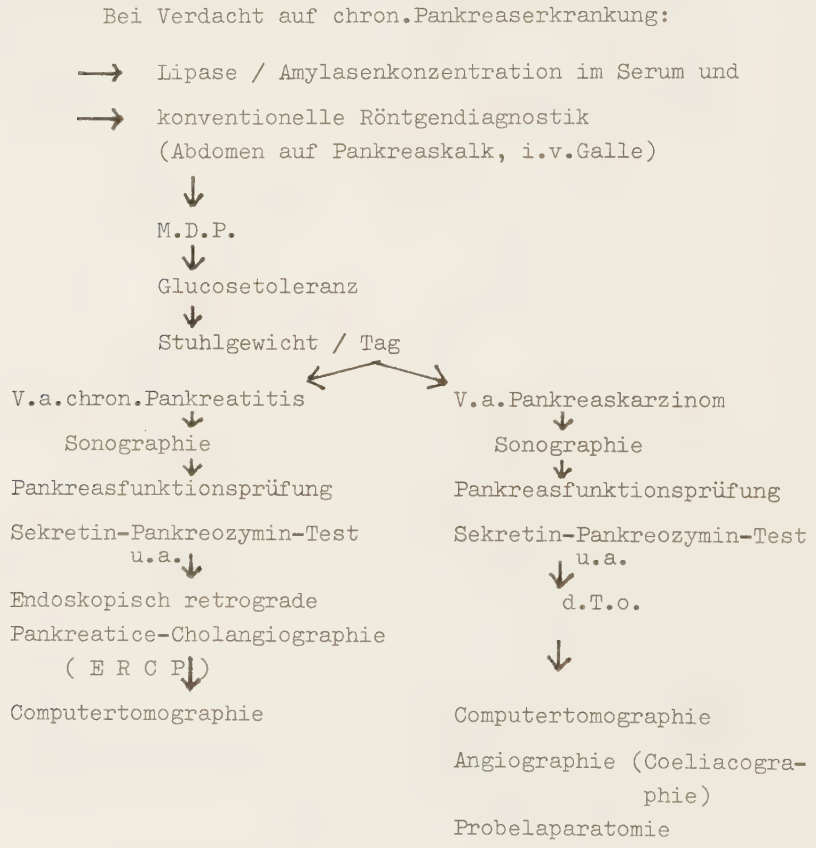
ES WURDEN UNTERSUCHT:	ANZAHL
Pankreas Ca	47
Pankreatitis	45
Colorect. Tumoren	58
Magen Ca	22
Mamma Ca	17
Morbus Crohn	31
verschiedene andere Ca	15
andere entzündliche Darmerkrankungen	4
gesunde Patienten	78

3.2.1. Spezielle Berücksichtigung des höheren Durchschnittsalters des Patientenkollektivs

Nach eigenen Untersuchungen und anderen Autoren (38,141) besteht hinsichtlich der $ß_2$m-Serumkonzentration eine Altersabhängigkeit: Mit zunehmendem Alter steigt die $ß_2$m-Serumkonzentration an. Im Schnitt wird ein Anstieg des Serumspiegels um 0,1 mg/l pro Dekade beschrieben.
Das Durchschnittsalter unserer Karzinompatienten betrug 60 Jahre. Aus diesem Grund wurde statt des üblichen Referenzbereiches von 0,9 - 2,4 mg/l eine obere "klinische Relevanzgrenze" von 3,0 mg/l $ß_2$m gewählt. Somit umfaßt der Referenzbereich von 0,9 - 3,0 mg/l alle Altersgruppen.
In diesem Zusammenhang sei kurz das Diagnoseschema erwähnt,

das unsere Patienten mir chron.rez.Pankreatitis, bzw.Verdacht auf Pankreaskarzinom durchliefen.

3.2.2. Schema zur Diagnosesicherung in der Differentialdiagnose chronisch rezidivierender Pankreatitis / Pankreaskarzinom



3.3. Ergebnisse

3.3.1. Erstellung einer Normalwertverteilung der $ß_2$m-Serumkonzentrationen aus einem Kollektiv gesunder Testpersonen

Im Gegensatz zu CEA gab es für $ß_2$m zum Zeitpunkt meiner experimentellen Arbeit noch keinen allgemeingültigen Referenzbereich. Es wurde daher versucht, einen eigenen zu erstellen.
Das Referenzkollektiv bestand aus einer Gruppe von 78 klinisch gesunden Personen im Alter zwischen 20 und 40 Jahren. (Darunter waren 57 Bundeswehrsoldaten und 21 Klinikangehörige). Von den Klinikangehörigen waren 5 männlich und 16 weiblich.

Die mittlere Serum $ß_2$m-Konzentration in der Referenzgruppe betrug 1610 ug/l. Die Häufigkeitsverteilung der Serumwerte wurde in dem X^2- Anpassungstest auf Abweichung von der Normalverteilung getestet. Mit einem X^2- Wert von 4,91 bei fünf Freiheitsgraden wurde selbst bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 30 % keine signifikante Abweichung von der Normalverteilung festgestellt.
Damit konnte mit einer gewissen Einschränkung die Übereinstimmung des 95 % - Vertrauensbereiches mit dem Bereich $X \pm 1{,}96\ s$ angenommen werden. Dieser Bereich lag zwischen 840 und 2390 ug/l (Abb.7).

Zwei Werte (670 und 759 ug/l) lagen unterhalb und ebenfalls zwei Werte (2455 und 2839 ug/l) ober - halb dieses Bereiches. Die genannte Einschränkung bezieht sich auf den in der Häufigkeitsverteilung angedeuteten positiven Exzeß: 60 Werte (77 %) liegen in den 1_s-Bereich zwischen 1200 und 2000 ug/l.

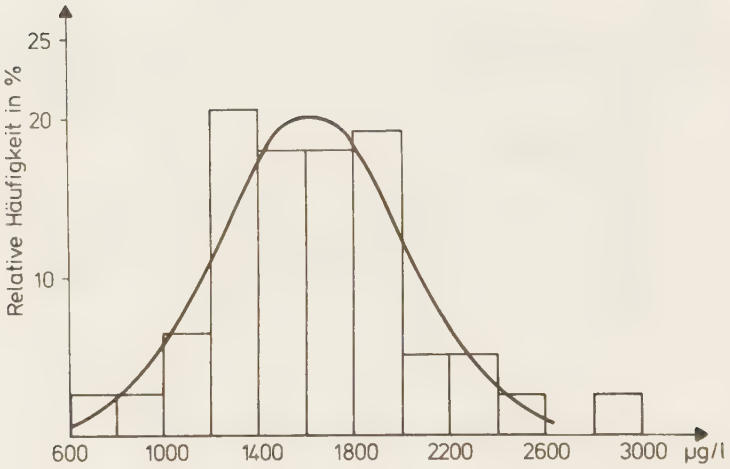


ABBILDUNG 7 : Relative Häufigkeitsverteilung der $ß_2$m-Konzentration bei 78 klinisch gesunden Personen.

3.3.1.1. Der selbst erstellte Referenzbereich im Vergleich zu dem anderer Autoren

Die in diesem Referenzkollektiv ermittelten Werte entsprachen den in der Literatur bisher angegebenen Daten. Von den meisten Autoren war die Serum $ß_2$m-Konzentration zu 1 600 ug/l im Mittelwert bestimmt worden (8, 39, 40, 42, 109, 126, 143, 144). (Abb.8)

Für die Bewertung der gemessenen CEA-Konzentrationen wurde der von HANSEN et al (57) etablierte und im "Roche Carcinoembryonic Antigenassay" + standartisierte Referenzbereich für CEA zugrunde gelegt.

+Roche Diagnostics. Division of Hoffman - La Roche Inc. Nutley, New Jersey 07110

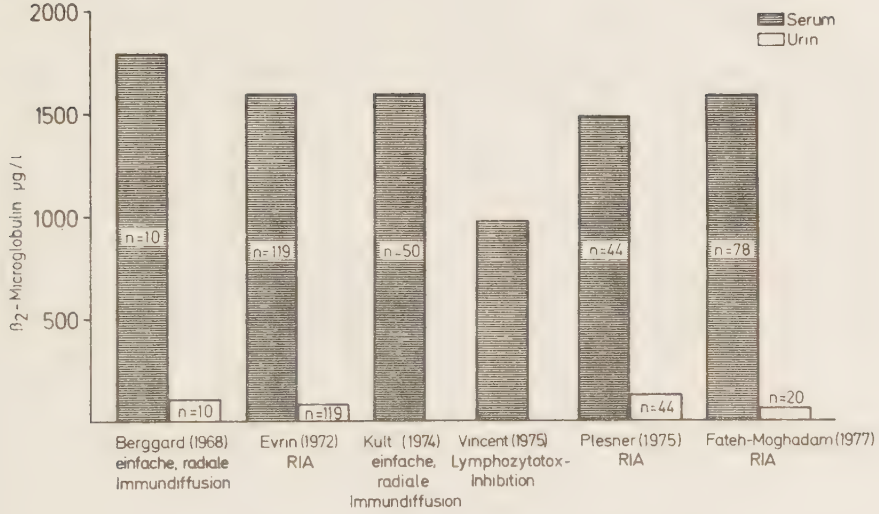


ABBILDUNG 8: Aufstellung der $ß_2$m-Serum-Werte verschiedener Autoren. Die dazu von den einzelnen Autoren verwandten Verfahren sind in der Tabelle angegeben.

3.3.2. Betrachtung der Verteilung der gefundenen $ß_2$m CEA-Konzentrationen in den einzelnen Diagnosegruppen

3.3.2.1. Diagnosegruppe : Pankreaskarzinom:

Tabelle 1 zeigt eine Aufstellung der für die 47 Pankreaskarzinome ermittelten Plasmakonzentrationen für Kreatinin, CEA und $ß_2$m, sowie des Alters der Patienten und -soweit bekannt- des Tumorstadiums.

Tabelle 1

Gefundene Werte für die Diagnosegruppe: Pankreas - Ca:

Nr.	Patient:	Alter in a	Crea. mg %	CEA ng/ml	$ß_2$m mg/l	T.-Stad.
1.	H.W.	67	1,2	2,4	5,11	4 inop.
2.	M.A.	77	0,9	5,6	4,40	4 inop.
3.	Dr.B.	60	1,2	30,8	5,42	-
4.	B.H.	73	0,8	1,6	3,40	4 inop.
5.	H.H.	62	1,1	30,0	3,26	-
6.	L.H.	52	0,7	0,0	2,45	-
7.	H.M.	66	0,9	27,6	1,92	4 inop.
8.	B.E.	67	0,9	20,7	3,09	4 inop.
9.	D.B.	65	0,7	7,1	5,45	-
10.	W.I.	67	0,3	41,9	3,55	-
11.	K.L.	63	0,8	14,1	3,31	4 inop.
12.	S.G.	78	1,0	5,6	8,09	-
13.	F.K.	62	0,5	4,0	1,60	-
14.	B.A.	72	1,0	11,4	3,80	-
15.	B.E.	79	0,3	2,8	3,36	-
16.	C.X.	69	0,6	0,6	1,52	-
17.	B.J.	32	0,6	6,7	1,46	-
18.	K.J.	53	0,8	12,3	1,45	4 inop.
19.	M.M.	82	1,1	30,0	3,87	-
20.	W.E.	58	0,5	3,3	2,07	2
21.	E.M.	62	1,1	1,1	2,24	-
22.	S.E.	75	1,2	9,8	3,25	4 inop.
23.	L.E.	75	0,3	77,0	4,17	-
24.	L.J.	48	1,0	10,0	1,71	4 inop.
25.	H.L.	66	0,7	10,5	3,80	4 inop.
26.	G.A.	69	0,9	0,1	3,34	-
27.	H.H.	72	0,3	6,6	17,12	4 inop.
28.	D.S.	27	0,3	18,6	1,38	4 inop.
29.	G.W.	81	1,2	7,3	3,42	2 op.
30.	K.W.	73	0,9	7,4	3,40	4 inop.
31.	E.H.	60	1,1	15,0	2,51	4 inop.
32.	A.R.	71	1,2	16,0	6,76	-
33.	S.G.	60	0,8	99,9 530,0	2,76	4 inop.

zu Tabelle 1

Nr.	Patient:	Alter in a	Crea. mg %	CEA ng/ml	$ß_2$m mg/l	T.Stad.
34.	S.O.	75	1,1	7,6	3,43	-
35.	S.S.	72	1,1	7,2	3,48	-
36.	S.O.	67	0,4	5,7	3,18	4 inop.
37.	M.R.	75	0,9	1,4	4,17	-
38.	R.M.	76	0,9	7,4	1,74	-
39.	S.J.	42	1,2	2,5	3,83	-
40.	W.T.	58	0,9	2,8	4,39	-
41.	M.K.	52	0,9	4,1	2,89	-
42.	S.A.	57	1,1	1,2	1,88	-
43.	G.T.	62	0,9	33,2	2,79	4 inop.
44.	Z.D.	61	1,2	3,0	8,33	1-2 op.
45.	L.F.	57	1,2	9,2	2,22	-
46.	B.J.	69	1,1	4,7	4,61	-
47.	S.K.	54	1,0	4,9	1,62	4 inop.

Das Durchschnittsalter der Patienten mit histologisch gesichertem Pankreaskarzinom betrug 63,1 Jahre. 18 von 47 Patienten konnten als sicher inoperable Tumoren klassifiziert werden, 3 waren sicher operabel.
Da dieses Patientenkollektiv in seinen Plasmawerten nicht einer Normalverteilung gehorcht, mußte statt des Mittelwertes der Konzentrationen von CEA und $ß_2$m der Medianwert ermittelt werden.
Der Medianwert betrug:
für $ß_2$m = 3,34 mg/l, Bereich 1,38 - 17,12;
für CEA: 7,2 ng/ml, Bereich 0,0 - 530 ng/ml.

Trotz der notwendigen altersbedingten Korrektur des Referenzbereiches für $ß_2$m von 2,4 auf 3,0 mg/l bleiben dennoch die $ß_2$m- Werte für das Pankreaskarzinom mit 62 % weiter deutlich erhöht. (Siehe Abb. 9).

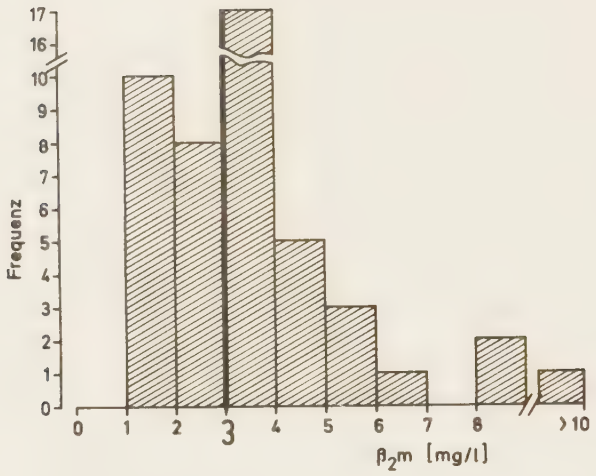


ABBILDUNG 9: Verteilung der $ß_2$m-Konzentration beim Pankreas-Ca

Abbildung 9 zeigt die Verteilung der $ß_2$m-Konzentrationen beim Pankreaskarzinom. Die schwarze Linie bei 3 mg/l kennzeichnet den erweiterten Referenzbereich

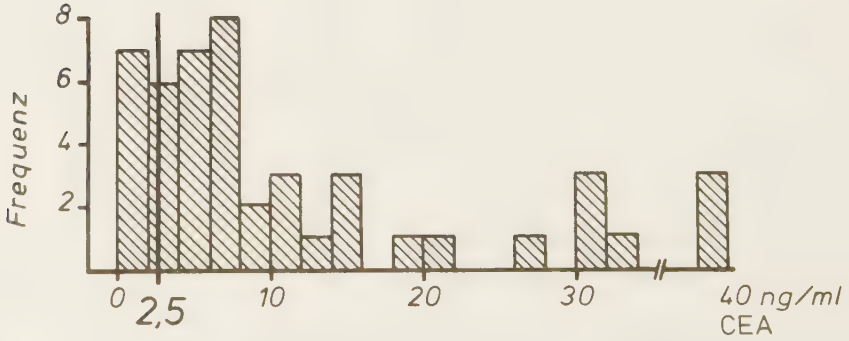


ABBILDUNG 10: Verteilung der CEA-Konzentrationen beim Pankreas-Ca

Abbildung 10 zeigt die Verteilung der CEA-Konzentrationen beim Pankreaskarzinom. Bei 38 von 47 (=81%) der Patienten fanden wir CEA-Plasmawerte über dem durch die schwarze Linie bei 2,5 ng/ml festgelegten Referenzbereich.

3.3.2.2. Diagnosegruppe: Pankreatitis

Tabelle 2 zeigt eine Aufstellung der Plasmakonzentrationen von Kreatinin, CEA und $ß_2m$ von 45 Patienten mit chronisch rezidivierender Pankreatitis, die in der differentialdiagnostischen Abgrenzung gegenüber der Pankreas-Ca-Gruppe von besonderer Bedeutung sind.

Tabelle 2

Gefundene Werte für die Diagnosegruppe: Pankreatitis

Nr.	Patient:	Alter in a	Crea. mg %	CEA ng/ml	$ß_2m$ mg/l
1.	K.G.	61	0,9	0,0	1,22
2.	S.G.	43	0,9	0,0	1,43
3.	T.A.	20	0,9	0,0	1,99
4.	K.C.	66	0,8	0,0	1,39
5.	S.A.	52	0,6	0,0	1,43
6.	S.B.	40	0,8	0,0	0,95
7.	D.C.	43	0,6	1,6	1,77
8.	E.J.	64	1,1	9,4	2,29
9.	M.T.	78	1,0	1,4	1,29
10.	T.H.	57	0,9	9,1	1,96
11.	T.R.	60	1,0	6,0	1,49
12.	E.L.	67	1,0	0,7	1,59
13.	H.F.	40	1,1	2,2	1,98
14.	B.E.	38	1,1	1,3	1,71
15.	M.F.	46	1,1	1,1	1,89
16.	W.R.	37	1,1	0,0	2,08
17.	W.J.	29	0,9	1,4	2,39
18.	S.N.	41	1,0	1,5	1,65
19.	W.H.	48	1,2	0,0	4,36
20.	K.F.	46	0,6	4,5	2,15
21.	J.K.	51	1,0	2,7	1,96
22.	R.B.	51	0,8	0,1	1,37
23.	M.F.	46	0,9	0,0	1,66
24.	H.F.	41	0,8	1,6	2,38
25.	B.E.	47	1,1	1,3	2,14

zu Tabelle 2

Nr.	Patient:	Alter in a	Crea. mg %	CEA ng/ml	$ß_2$m mg/l
26.	C.H.	45	0,9	1,3	1,92
27.	V.R.	60	0,9	2,9	2,18
28.	W.O.	68	1,0	3,2	2,05
29.	S.S.	28	0,9	3,5	1,98
30.	W.M.	66	0,7	0,5	2,13
31.	S.W.	37	0,8	3,0	1,66
32.	H.H.	59	0,4	5,3	2,23
33.	B.M.	33	1,0	1,3	2,04
34.	L.K.	43	0,8	2,0	1,61
35.	S.A.	36	1,1	1,4	2,16
36.	S.G.	39	0,9	2,5	2,32
37.	S.M.	41	0,9	0,9	1,48
38.	B.G.	30	0,8	0,0	1,81
39.	B.G.	51	1,0	4,5	2,96
40.	K.F.	37	0,9	10,0	0,88
41.	B.P.	47	0,5	8,6	1,42
42.	R.G.	20	0,9	0,7	1,95
43.	O.W.	39	0,8	3,6	1,91
44.	Z.D.	35	0,8	6,2	1,32
45.	D.K.	50	1,1	4,9	2,31

Das Durchschnittsalter der Patienten mit chronisch rezidivierender Pankreatitis betrug 46,8 Jahre.

Der Medianwert betrug: 1,92 mg/l für $ß_2$m; Bereich:0,88-436 mg/l.
1,4 ng/ml für CEA; Bereich:0,0 -10,0 .

Wir fanden bei nur einem der 45 an chronisch rezidivierender Pankreatitis erkrankten Patienten einen $ß_2$m-Wert über 3,0 mg/l (=2%). (Siehe Abb.11) Dabei ist anzumerken, daß bei diesem Patienten mit einem $ß_2$m-Wert von 4,36 mg/l gleichzeitig eine knapp kindskopf große Pankreaspseudozyste bestand.
Über 2,5 ng/ml erhöhte CEA-Werte fanden wir dagegen bei 16 von 45 Patienten (=35,5%). (Siehe Abb.12)

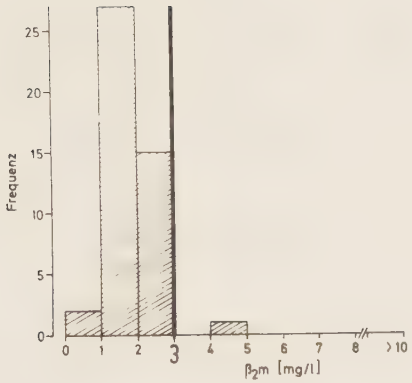


ABBILDUNG 11: Verteilung der $ß_2$m-Konzentrationen für die Diagnosegruppe: Chron. rez. Pankreatitis

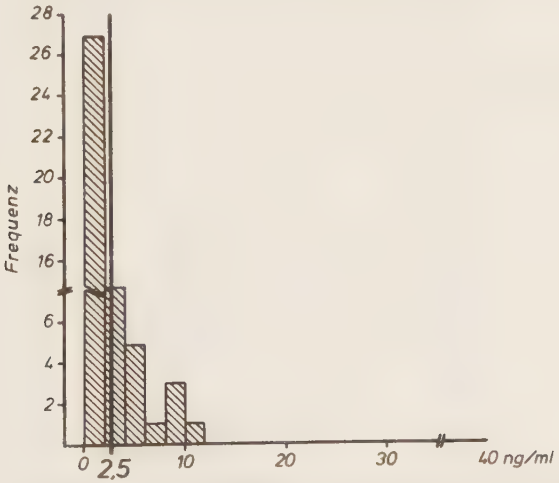


ABBILDUNG 12: Verteilung der CEA-Konzentrationen für die Diagnosegruppe: Chron. rez.Pankreatitis

Wie man auf Abb.11 erkennt, liegen 44 von 45 unserer Patienten mit chron.rez.Pankreatitis mit ihren Plasmawerten für $ß_2$m im Normbereich unter 3,0 mg/l.
Abb.12 macht deutlich, daß für CEA bei chron.rez. Pankreatitis einige falsch positive Werte auftreten. 15 von 45 der Werte fallen in den Bereich zwischen 2,5 - 10 ng/ml. Ein Wert liegt sogar über 10 ng/ml. Insgesamt finden wir hier in 35,5% der Fälle deutlich erhöhte CEA-Werte (d.h. ein falsch pos.Testergebnis).

3.3.2.3. Diagnosegruppe: Morbus Crohn

Neben der chronischen Pankreatitis erscheint auch die differentialdiagnostische Abgrenzung anderer entzündlicher nicht maligner gastrointestinaler Erkrankungen vom Pankreaskarzinom von klinischem Interesse. Es wurden daher zusätzlich die Plasmen von 31 Patienten mit Morbus Crohn untersucht.

Tabelle 3 zeigt wiederum die Plasmakonzentrationen von Kreatinin, $ß_2m$ und CEA sowie das Alter dieser Patienten.

Tabelle 3

Gefundene Werte für die Diagnosegruppe: Morbus Crohn

Nr.	Patient:	Alter in a	Crea. mg %	CEA ng/ml	$ß_2m$ mg/l
1.	B.H.	46	1,0	1,4	1,79
2.	E.H.	31	1,0	1,6	1,69
3.	S.D.	22	0,7	1,4	1,52
4.	K.W.	28	0,9	0,3	1,63
5.	K.H.	24	0,9	2,4	1,51
6.	E.P.	49	0,9	1,2	1,50
7.	W.M.	32	0,9	1,3	1,79
8.	M.M.	27	0,8	0,8	1,99
9.	W.A.	22	0,8	0,9	2,61
10.	D.I.	38	0,9	1,7	1,85
11.	H.S.	26	0,7	1,4	1,13
12.	R.L.	35	0,9	0,1	1,64
13.	F.F.	64	1,0	0,4	2,09
14.	U.G.	42	0,9	1,2	1,50
15.	B.M.	22	1,2	1,2	2,07
16.	M.T.	27	1,1	4,6	1,48
17.	F.B.	31	0,7	5,8	1,00
18.	M.B.	40	0,8	3,1	1,52
19.	K.E.	29	1,0	1,1	1,67
20.	H.A.	53	0,9	3,0	2,20
21.	L.F.	33	1,2	0,3	1,37
22.	G.A.	52	0,8	2,6	1,26

zu Tabelle 3

Nr.	Patient:	Alter in a	Crea. mg %	CEA ng/ml	$ß_2$m mg/l
23.	W.A.	22	0,9	0,9	2,67
24.	W.J.	38	1,1	2,4	1,62
25.	S.U.	30	0,8	1,0	2,36
26.	P.G.	22	1,0	5,1	1,33
27.	B.B.	29	0,7	6,2	2,15
28.	M.H.	22	0,6	4,3	1,60
29.	H.G.	40	0,7	1,1	1,65
30.	M.D.	26	1,0	2,2	2,71
31.	G.F.	56	1,2	8,7	1,79

Das Durchschnittsalter der 31 Patienten mit Morbus Crohn betrug 34,1 Jahre.

Der Medianwert der Plasmakonzentrationen war

für $ß_2$m 1,645 mg/l; Bereich: 1,00 - 2,71 mg/l

für CEA 1,4 ng/ml; Bereich: 0,1 - 8,7 ng/ml

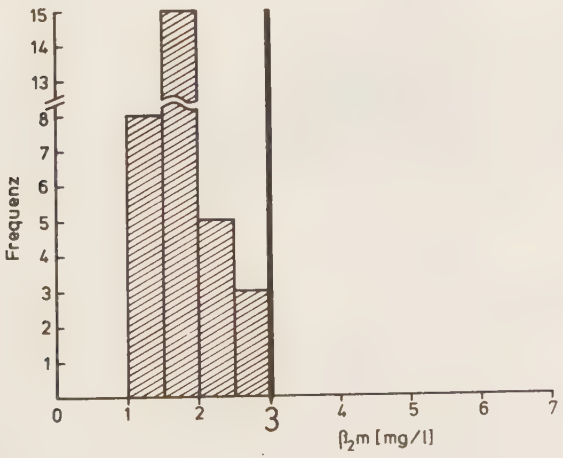


ABBILDUNG 13: Verteilung der $ß_2$m-Plasmakonzentrationen in der Diagnosegruppe: Morbus Crohn

Wie man sieht, findet sich in unserem Kollektiv von Patienten mit Morbus Crohn kein erhöhter $ß_2$m-Wert (> 3,0 mg/l), dagegen in 29 % der Fälle (Abb 14) erhöhte CEA-Werte. 20 der 31 Patienten waren zur Zeit der Probeentnahme im akuten Schub mit einem Best'schen Index 150 (x 51). Es fand sich kein Zusammenhang zwischen momentaner Aktivität des Entzündungsprozesses und $ß_2$m-Plasmaspiegel.

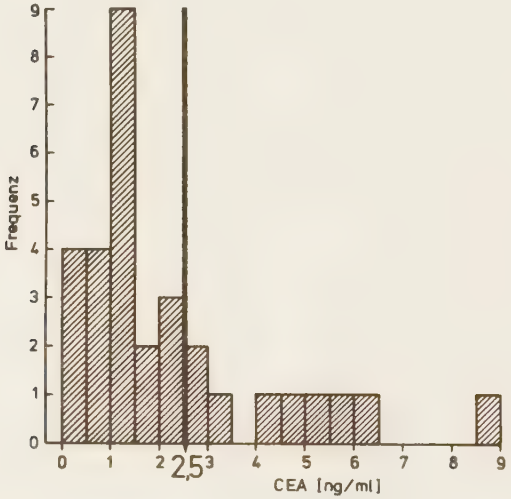


ABBILDUNG 14: Verteilung der CEA-Plasmakonzentrationen in der Diagnosegruppe: Morbus Crohn

Abbildung 14 zeigt, daß die CEA-Bestimmung beim Morbus Crohn in 9 von 31 Fällen (=29%) pathologische Werte erbrachte. Jedoch überschritt kein Patient eine CEA-Plasmakonzentration von 9 ng/ml.

3.3.2.4. Diagnosegruppe: Colorektale Karzinome

Tabelle 4 gibt eine Aufstellung der Plasmakonzentrationen von Kreatinin, CEA und $ß_2$m sowie des Alters und - soweit bekannt- des Tumorstadiums.
Das Durchschnittsalter der 58 Patienten mit colorektalen Karzinomen betrug 62,1 Jahre.
Der Medianwert der Plasmakonzentrationen war
für $ß_2$m 2,00 mg/l; Bereich: 1,03 - 5,41 mg/l
für CEA 6,35 ng/ml; Bereich: 0,0 - 4210,0 ng/ml

Mit Werten von 4210,0 und 611 ng/ml fanden sich in der Diagnosegruppe der colorektalen Karzinome die beiden höchsten CEA-Werte des gesamten Kollektivs.
Bezüglich des Tumorstadiums kann man aus Tabelle 4 vor allem für die gefundenen CEA-Werte eine deutliche Tendenz zu höheren Werten mit fortschreitendem Tumorwachstum ersehen.
In geringerem Umfang und mit einigen Ausnahmen gilt diese Feststellung auch für die in Tabelle 4 festgehaltenen $ß_2$m-Werte. Erhöhte $ß_2$m-Werte wurden aber auch im Stadium 1 gefunden, wie andererseits normale Werte im Stadium 4.

Tabelle 4

Gefundene Werte für die Diagnosegruppe: Colorektales Karzinom

Nr.	Patient:	Alter in a	Crea. mg %	CEA ng/ml	$ß_2$m mg/l	T.Stad.
1.	S.J.	64	0,9	0,6	2,01	1
2.	W.M.	64	0,8	4,8	1,27	2
3.	B.J.	71	0,9	24,6	1,47	4
4.	H.K.	67	1,2	0,0	2,42	-
5.	K.M.	52	0,8	6,8	2,77	-
6.	K.M.	67	0,9	0,0	2,43	3
7.	S.E.	45	0,9	27,4	2,10	3
8.	Z.M.	60	0,7	0,6	1,52	-
9.	H.R.	53	1,0	0,0	1,95	-
10.	S.H.	32	0,8	0,6	1,51	2
11.	M.H.	75	0,7	0,0	1,58	2

zu Tabelle 4

Nr.	Patient:	Alter in a	Crea mg %	CEA ng/ml	$ß_2$m mg/l	T.Stad.
12.	R.H.	60	1,2	39,4	2,80	3-4
13.	K.A.	74	0,6	21,1	1,93	-
14.	O.G.	54	1,2	0,1	1,45	1
15.	E.P.	71	0,9	30,0	2,68	4
16.	B.F.	66	0,6	1,2	1,29	-
17.	W.V.	60	0,9	11,0	2,48	-
18.	M.T.	67	0,8	7,7	1,74	2
19.	G.K.	57	1,0	6,0	1,37	1
20.	U.M.	31	0,9	0,2	1,26	-
21.	L.M.	81	1,1	1,3	4,51	4
22.	K.H.	65	1,1	4210,0	5,41	4
23.	K.E.	80	0,7	0,5	1,68	-
24.	H.S.	65	0,8	0,1	2,25	2
25.	M.L.	64	0,9	4,7	2,80	4
26.	S.E.	64	1,1	0,8	5,14	1
27.	R.S.	52	1,0	14,8	1,42	-
28.	G.E.	46	1,0	21,7	1,98	-
29.	B.H.	64	0,9	0,2	2,81	-
30.	D.F.	75	0,6	1,9	1,97	3
31.	K.A.	62	1,0	1,6	1,33	-
32.	G.X.	76	1,2	3,4	2,44	2
33.	S.H.	33	0,8	6,0	1,77	4
34.	D.E.	62	0,7	4,5	2,23	4
35.	H.O.	59	0,8	30,0	1,93	4
36.	S.H.	43	1,0	395,0	1,58	-
37.	S.F.	72	0,9	20,6	1,65	-
38.	B.J.	65	1,2	18,7	5,07	-
39.	R.A.	75	1,2	611,0	2,37	4
40.	G.F.	70	0,9	5,1	1,58	-
41.	K.E.	64	0,9	0,8	1,99	-
42.	A.H.	45	0,9	12,5	1,12	2
43.	E.R.	35	0,3	1,5	1,03	2
44.	H.R.	58	1,2	8,4	2,27	2
45.	N.M.	77	1,0	1,0	1,61	-

zu Tabelle 4

Nr.	Patient:	Alter in a	Crea mg %	CEA ng/ml	β_2m mg/l	T.Stad.
46.	G.G.	60	1,0	20,0	4,36	-
47.	G.J.	66	1,1	26,0	3,56	4
48.	M.T.	63	0,7	22,0	1,61	3
49.	S.E.	79	0,9	2,9	1,44	-
50.	S.A.	69	1,2	0,3	2,40	3
51.	N.O.	83	1,0	19,8	2,15	2
52.	G.F.	55	0,7	6,7	2,97	-
53.	G.U.	73	1,0	83,0	3,19	-
54.	K.A.	57	0,7	33,5	1,61	4
55.	L.T.	66	0,7	17,7	3,19	3
56.	W.J.	76	0,9	23,0	2,64	-
57.	W.A.	72	1,2	21,8	2,46	4
58.	M.H.	43	0,7	16,8	2,07	-

Legende zum Tumorstadium:

Tumorstadium 1 = Dukes A (Tumor auf Wand begrenzt)
Tumorstadium 2 = Dukes B (Tumor infiltrierend ins umgebende Gewebe eingebrochen)
Tumorstadium 3 = Dukes C (Tumormetastasen in den regionären Lymphknoten)
Tumorstadium 4 = Dukes D (Fernmetastasen)

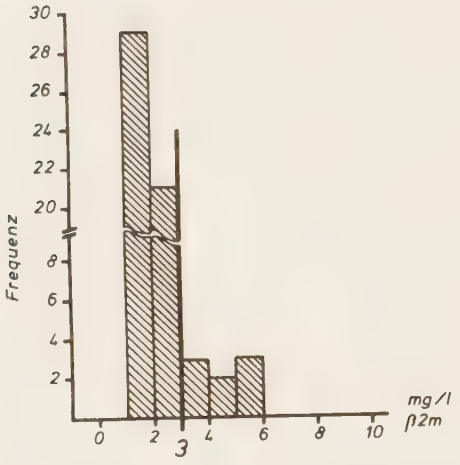


ABBILDUNG 15: Verteilung der $ß_2$m-Plasmakonzentrationen für die Diagnosegruppe: Colorektales Karzinom

Wie Abbildung 15 zeigt, erbrachte die $ß_2$m-Bestimmung bei 58 colorektalen Karzinomen nur in 8 von 58 Fällen (= 13,8%) pathologische Werte über 3,0 mg/l.

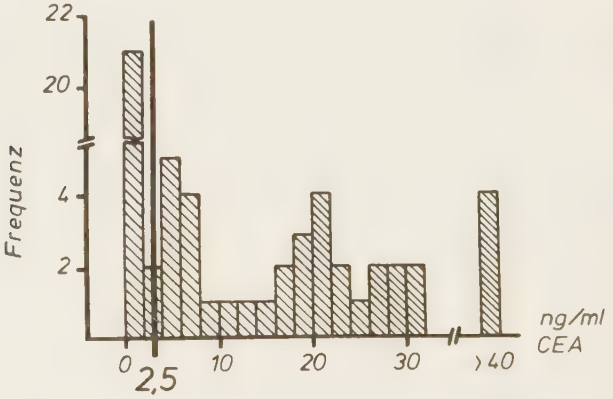


ABBILDUNG 16: Verteilung der CEA-Plasmakonzentrationen für die Diagnosegruppe: Colorektales Karzinom

Man erkennt in Abbildung 16 für diese Diagnosegruppe einen deutlicheren Trend zu höheren Werten. Insgesamt zeigten 37 der 58 Patienten (=64%), die an colorektalen Karzinomen erkrankt waren, CEA-Plasma-Werte jenseits des mit dem schwarzen Balken gekennzeichneten Referenzbereiches von 0 - 2,5 ng/ml.

3.3.2.5. Diagnosegruppe: Magenkarzinome

Tabelle 5

Gefundene Werte für die Diagnosegruppe: Magenkarzinom

Nr.	Patient:	Alter in a	Crea. mg %	CEA ng/ml	β_2m mg/l	T.-Stad.
1.	H.A.	77	0,9	1,7	3,20	4
2.	S.C.	78	0,9	0,1	3,42	-
3.	K.L.	77	0,6	5,8	2,60	4
4.	W.V.	77	1,0	7,3	1,80	-
5.	M.M.	51	0,7	0,4	1,63	-
6.	F.A.	65	0,8	0,3	2,55	-
7.	T.G.	74	0,9	18,0	2,31	4
8.	M.M.	76	0,5	0,1	2,21	2
9.	S.A.	67	0,9	22,0	2,55	4
10.	S.R.	57	0,5	25,3	1,96	4
11.	B.T.	82	0,6	1,0	2,26	1
12.	R.A.	46	1,1	1,7	1,55	1
13.	R.A.	63	0,9	41,4	2,44	-
14.	K.T.	71	0,8	0,7	3,13	-
15.	D.K.	60	0,9	0,2	1,63	-
16.	W.H.	58	0,8	0,4	1,75	-
17.	B.B.	36	1,0	0,0	1,25	-
18.	D.J.	68	1,2	0,1	3,42	-
19.	B.P.	64	1,1	1,1	1,95	-
20.	S.F.	53	0,9	4,0	1,75	-
21.	W.A.	67	1,2	2,4	2,24	-
22.	R.J.	70	1,2	3,4	2,00	3-4

In Tabelle 5 sind wiederum die Plasmakonzentrationen von Kreatinin, CEA und $ß_2$m, sowie Alter und Tumorstadium aufgeführt.
Das Durchschnittsalter von 22 Patienten mit Magenkarzinom betrug 65,3 Jahre.
Der Medianwert der Plasmakonzentrationen war

für $ß_2$m 2,22 mg/l; Bereich: 1,25 - 3,42 mg/l
für CEA 1,4 ng/ml; Bereich: 0,0 - 41,4 ng/ml

Wenn man auch einschränkend die geringe Fallzahl (n=22) berücksichtigen muß, so zeigt sich nach Tabelle 5 für die Diagnosegruppe Magenkarzinom für die CEA-Plasmakonzentration eine Neigung zu höheren Werten bei fortgeschrittenen Tumoren ebenso wie bei der Gruppe mit colorektalen Tumoren. Für $ß_2$m läßt sich hier kein solcher Zusammenhang erkennen.

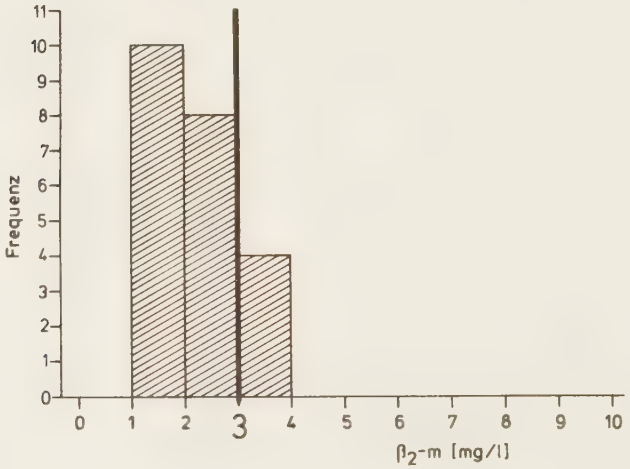


ABBILDUNG 17: Verteilung der $ß_2$m-Plasmakonzentrationen in der Diagnosegruppe: Magenkarzinom

Wie Abbildung 17 zeigt, liegen auch beim Magenkarzinom nur 4 von 22 (=18%) der Patienten mit ihren Plasma-$ß_2$m-Werten über 3,0 mg/l. Kein Patient weist einen Wert über 4,0 mg/l

auf. Auch hier erscheint die CEA-Bestimmung mit einer genau doppelt so hohen Positivitätsrate i.e. 8 von [illegible] (=36%) diagnostisch sensibler zu sein (siehe Abb.18).

In Abbildung 18 ist die Verteilung der CEA-Werte für das Magen-Ca wiedergegeben.

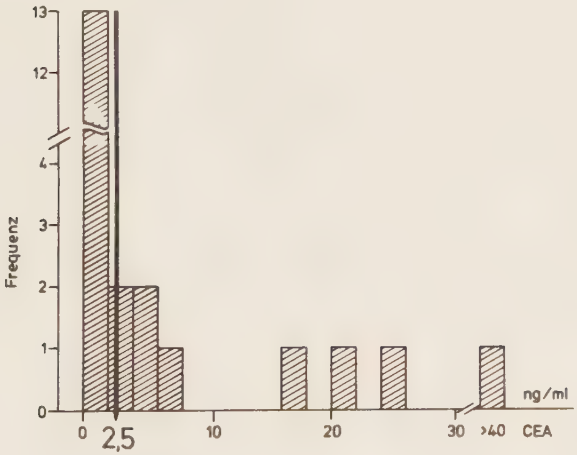


ABBILDUNG 18: Verteilung der CEA-Plasmakonzentrationen für die Diagnosegrupppe: Magenkarzinom

In Abbildung 16 wird für die Diagnosegruppe Magenkarzinom ersichtlich, daß hier im Gegensatz zu den $ß_2$m-Werten die CEA-Werte nicht nur häufiger, sondern auch höher in den pathologischen Bereich zu liegen kommen.

3.3.2.6. Diagnosegruppe: Mammakarzinom

In Tabelle 6 sind die Meßwerte, Alter und Tumorstadium der 17 an Mammakarzinom erkrankten Patientinnen aufgeführt. Das Durchschnittsalter der Patientinnen mit Mammakarzinom betrug 56,1 Jahre.

Der Medianwert der Plasmakonzentrationen war

für $ß_2$m 1,86 mg/l; Bereich: 1,18 - 3,86 mg/l

für CEA 1,3 ng/ml; Bereich: 0,0 - 32,3 ng/ml

Von den 7 Patientinnen im Tumorstadium 4 zeigte nur eine einen über 3,0 mg/l erhöhten $ß_2$m-Wert (Tab.6). In den übrigen Tumorstadien wurde keine $ß_2$m-Erhöhung festgestellt. Nur 4 der 17 Patientinnen hatten erhöhte CEA-Werte. Auch in dieser Diagnosegruppe scheint ein Zusammenhang zwischen $ß_2$m-Konzentration und Tumorstadium zweifelhaft (siehe Tab.6). Die geringe Fallzahl erlaubt hier jedoch keine endgültige Aussage.

Tabelle 6

Gefundene Werte für die Diagnosegruppe: Mammakarzinom

Nr.	Patient:	Alter in a	Crea. mg %	CEA ng/ml	$ß_2$m mg/l	T.-Stad.
1.	W.J.	51	1,2	32,3	3,86	4
2.	W.G.	66	1,2	1,2	2,76	4
3.	M.M.	64	0,9	0,0	1,65	-
4.	W.M.	62	0,9	0,2	1,85	1
5.	M.B.	30	0,8	0,6	1,77	3
6.	S.R.	56	1,1	17,0	2,10	4
7.	M.A.	35	0,7	0,6	1,44	-
8.	K.E.	60	1,0	0,5	2,78	4
9.	W.E.	60	0,8	0,0	1,86	4
10.	W.M.	46	0,9	19,4	2,35	4
11.	W.M.	78	0,9	1,3	2,18	3
12.	D.B.	42	0,8	12,7	2,60	4
13.	M.H.	64	0,9	2,2	1,85	-
14.	M.H.	64	0,8	2,2	1,90	-
15.	E.P.	53	1,2	0,8	1,83	-
16.	S.E.	56	1,0	2,0	1,37	-
17.	W.K.	67	1,2	2,3	1,18	2

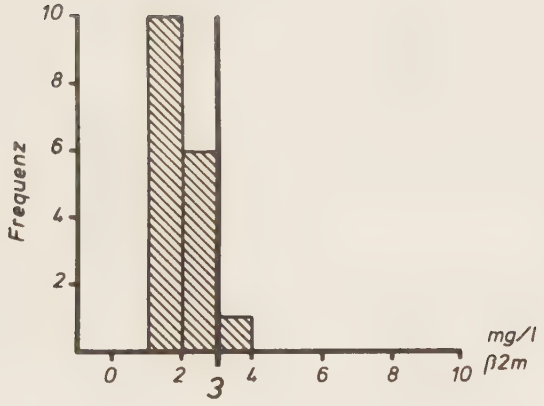


ABBILDUNG 19: Verteilung der $ß_2$m-Plasmakonzentrationen in der Diagnosegruppe: Mammakarzinom

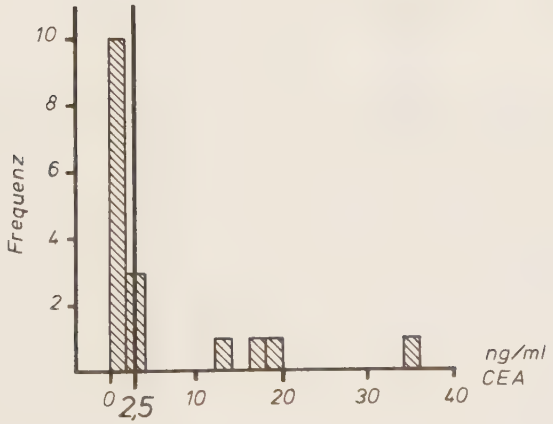


ABBILDUNG 20 : Verteilung der CEA-Plasma-Konzentrationen in der Diagnosegruppe: Mammakarzinom

3.3.2.7. Diagnosegruppe: Uterus-Ovarialkarzinom

In Tabelle 7 sind die gefundenen Meßwerte, Alter und Tumorstadium dieser 8 Patientinnen aufgeführt.
Das Durchschnittsalter der Patientinnen mit Uterus- oder Ovarial-Ca betrug 63,6 Jahre.
Der Medianwert der Plasmakonzentrationen war
für $ß_2m$ 1,70 mg/l; Bereich: 1,08 - 2,58 mg/l
für CEA 0,55 ng/ml; Bereich: 0,0 - 6,5 ng/ml

Tabelle 7
Gefundene Werte für die Diagnosegruppe: Uterus-Ovarial-Ca

Nr.	Patient:	Alter in a	Crea mg %	CEA ng/ml	$ß_2m$ mg/l	T.Stad.
1.	C.V.	59	0,8	0,0	1,62	2
2.	A.A.	57	0,7	1,0	2,01	1
3.	D.B.	58	0,8	0,2	1,79	1
4.	C.D.	68	0,6	0,0	2,38	2
5.	M.M.	79	1,2	0,7	2,58	-
6.	R.F.	52	1,1	6,5	1,53	3
7.	L.A.	67	0,9	1,0	1,52	4
8.	M.Z.	69	0,8	0,4	1,08	4

Abbildung 21 zeigt die Verteilung der $ß_2m$-Werte bei den Uterus- und Ovarial-Karzinomen. Man erkennt, daß sämtliche Uterus- und Ovarialkarzinomen $ß_2m$-Werte unter 3,0 mg/l aufweisen. Von den Ovarialkarzinomen zeigt keines einen Wert über 2,0 mg/l.
Eine Patientin mit Ovarial-Ca hat einen CEA-Titer von 6,5 ng/ml. (Abb.22)

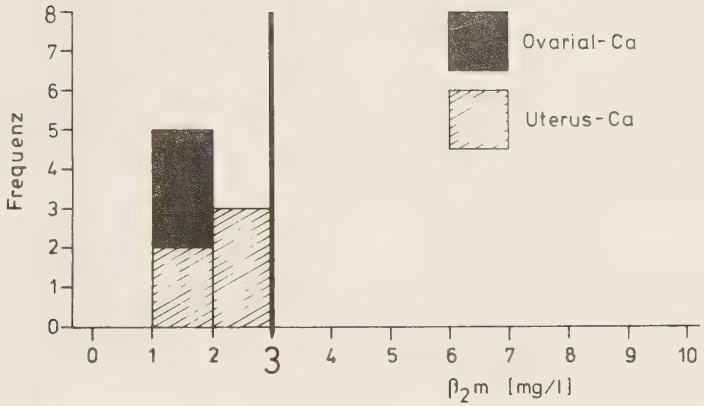


ABBILDUNG 21 : Verteilung der β_2m-Plasmakonzentrationen in der Diagnosegruppe: Uterus-Ovarialkarzinom

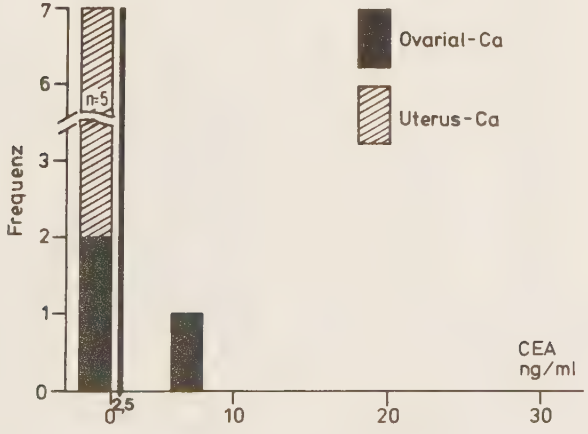


ABBILDUNG 22: Verteilung der CEA-Plasmakonzentrationen in der Diagnosegruppe: Uterus-Ovarialkarzinom

3.3.2.9. Diagnosegruppe: Andere Malignome

In Tabelle 8 sind die Plasmakonzentrationen von Kreatinin, $ß_2m$ und CEA, sowie Alter, Diagnose und -soweit bekannt- Tumorstadium von 15 verschiedenen anderen Karzinomen aufgeführt. Dabei handelt es sich um 3 Patienten mit Bronchialkarzinom, 1 Dünndarmkarzinom, 2 Gallengangskarzinome, 1 Kehlkopfkarzinom, 2 primäre Leberkarzinome, 1 malignes Melanom, eine Metastasenleber bei unbekanntem Primärtumor und 2 Patienten mit Prostatakarzinom.

Tabelle 8

Gefundene Werte für die Diagnosegruppe : Andere Malignome

Nr.	Patient:	Alter in a	Crea. mg %	CEA ng/ml	$ß_2m$ mg/l	T.St.	Diagnose:
1.	S.K.	58	0,6	0,3	1,38	-	Melanomsarkom
2.	H.F.	78	0,8	0,3	2,53	4	Prostata-Ca
3.	K.H.	74	0,6	5,4	2,85	-	Prostata-Ca
4.	H.A.	65	1,2	0,2	2,37	3	Leber-Ca
5.	S.L.	78	0,6	6,5	2,28	-	Kehlkopf-Ca
6.	A.A.	62	1,0	5,8	1,72	3	Bronchial-Ca
7.	P.H.	51	1,1	15,9	3,43	-	Bronchial-Ca
8.	V.O.	67	0,9	18,5	2,14	4	Bronchial-Ca
9.	T.F.	72	0,9	3,2	1,94	-	Papillen-Ca
10.	M.D.	60	0,9	19,3	3,61	4	Gallenblasen-Ca
11.	M.U.	78	0,1	9,7	3,84	-	Gallengang -Ca
12.	Z.E.	56	1,0	0,8	3,22	4	Peritonealkarcinose b.unb.P.T.
13.	E.H.	57	1,0	0,8	3,16	-	Leber-Ca
14.	T.H.	36	1,1	0,0	0,98	2	Dünndarm-Ca
15.	V.F.	73	0,9	20,2	2,24	4	Metastasenleber b-unb.P.T.

Das Durchschnittsalter der Patienten dieser Diagnosegruppe betrug 64,3 Jahre.

Der Medianwert der Plasmakonzentrationen war

für $ß_2m$ 2,37 mg/l; Bereich: 0,98 - 3,84 mg/l

für CEA 5,4 ng/ml; Bereich: 0,0 - 20,2 ng/ml

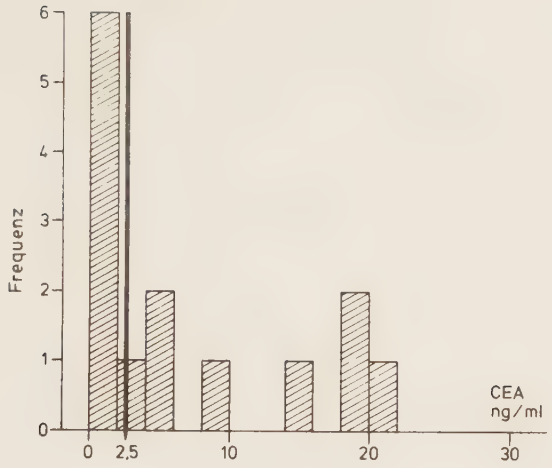


ABBILDUNG 23: Verteilung der $ß_2$m-Konzentrationen in der Diagnosegruppe: Andere Malignome

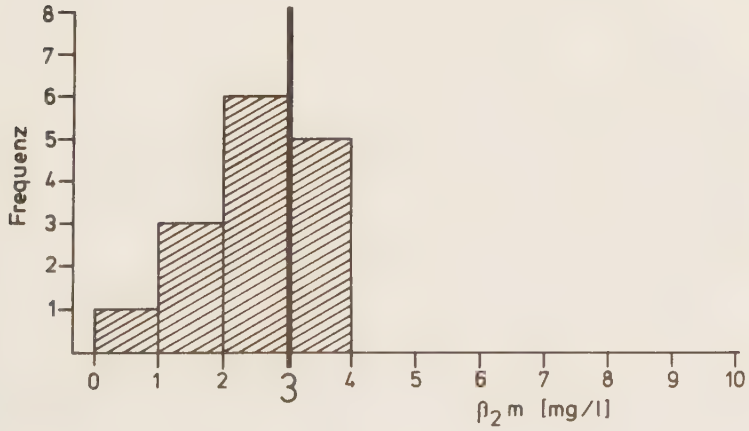


ABBILDUNG 24: Verteilung der CEA-Konzentrationen in der Diagnosegruppe: Andere Malignome

Abbildung 23 zeigt die Verteilung der Plasmakonzentrationen von $ß_2m$ in der Diagnosegruppe: andere Malignome. 5 von 15 (=33%) der Patienten zeigen $ß_2m$-Werte über 3,0 mg/l, aber alle bleiben unter 4,0 mg/l.
Aus Abbildung 24 ist zu ersehen, daß in dieser Diagnosegruppe die CEA-Werte doch erheblich streuen. 9 von 15 Patienten (=60%) zeigten mehr oder minder deutlich erhöhte CEA-Werte.

3.3.2.9. Diagnosegruppe: Andere benigne Darmerkrankungen

Neben den 31 Patienten mit Morbus Crohn wurden auch die $ß_2m$- und CEA-Werte von zwei Patienten mit Colitis ulcerosa, einem Patienten mit villösem Adenom des Sigma und einem Patienten mit Colon-Polypen bestimmt. Tabelle 10 gibt über gefundene Werte Auskunft. Wie man sieht, finden sich bei diesen vier Patienten bis auf einen leicht erhöhte CEA-Werte (6,3 ng/ml bei colitis ulcerosa u. M.Bechterew), keine pathologischen Werte.

Der Medianwert der Plasmakonzentrationen war

für $ß_2m$ 2,01 mg/l;
für CEA 1,35 ng/ml.

Tabelle 10

Gefundene Werte für die Diagnosegruppe: Benigne Darmerkrankungen

Nr.	Patient:	Alter in a	Crea mg %	CEA ng/ml	$ß_2m$ mg/l	Diagnose:
1.	L.T.	73	0,8	1,5	2,25	Colon-Polypen
2.	S.M.	62	0,9	1,2	1,77	villöses Adenom Sigma
3.	S.H.	38	0,9	6,3	2,44	Colitis ulcerosa u. M.Bechterew
4.	R.E.	25	0,8	0,9	1,21	Colitis ulcerosa

3.3.3. [illegible]

Ergebnisse und statistische Auswertung

Tabelle 11 gibt eine Übersicht über die prozentuale Verteilung der Erhöhung von $ß_2m$ und CEA in den einzelnen Diagnosegruppen.

3.3.3.1. Übersicht über die prozentuale Verteilung der Werte und Wertekombinationen in den einzelnen Diagnosegruppen

Tabelle 11

Diagnosegruppe:	$ß_2m$ 3,0 mg/l	CEA 2,5 ng/ml	CEA u. $ß_2m$	CEA o. $ß_2m$
Pankaeas-Ca n = 47	29/47 = 62 %	38/47 = 81 %	24/47 = 51 %	43/47 = 91,5 %
Pankreatitis n = 45	1/45 = 2 %	16/45 = 35,5 %	0/45 = 0 %	17/45 = 38 %
Colorekt.Ca n = 58	8/58 = 13,8%	37/58 = 64 %	6/58 = 10 %	39/58 = 67 %
Magen-Ca. n = 22	4/22 = 18 %	8/22 = 36 %	0/22 = 0 %	11/22 = 54,5 %
Mamma-Ca. n = 17	1/17 = 6 %	4/17 = 23,5 %	1/17 = 6 %	4/17 = 23,5 %
Uterus-Ovar.Ca n = 8	0/8 = 0 %	1/8 = 12,5 %	0/8 = 0 %	1/8 = 12,5 %
versch.and.Ca n = 15	5/15 = 33 %	9/15 = 60 %	3/15 = 20 %	11/15 = 73 %
Morbus Crohn n = 31	0/31 = 0 %	9/31 = 29 %	0/31 = 0 %	9/31 = 29 %

5.1.2.1. Gegenüberstellung der Konzentrationsverteilungen von $ß_2$m und CEA in der Differentialdiagnose chronisch rezidivierender Pankreatitis :Pankreas-Ca.

Im direkten Vergleich der gemessenen Konzentrationsverteilungen von $ß_2$m beim Pankreas-Ca (obere schraffierte Blöcke s.Abb.25) und der chronisch rezidivierenden Pankreatitis (untere schraffierte Blöcke s.Abb.25) wird deutlich, wie scharf diese beiden Krankheiten anhand dieses Parameters zu unterscheiden sind. Für die chronisch rezidivierende Pankreatitis liegt der Häufigkeitsgipfel der gemessenen $ß_2$m-Plasma-Konzentration innerhalb des Referenzbereiches, während die Werte beim Pankreas-Ca bis in hoch pathologische Konzentrationen reichen.

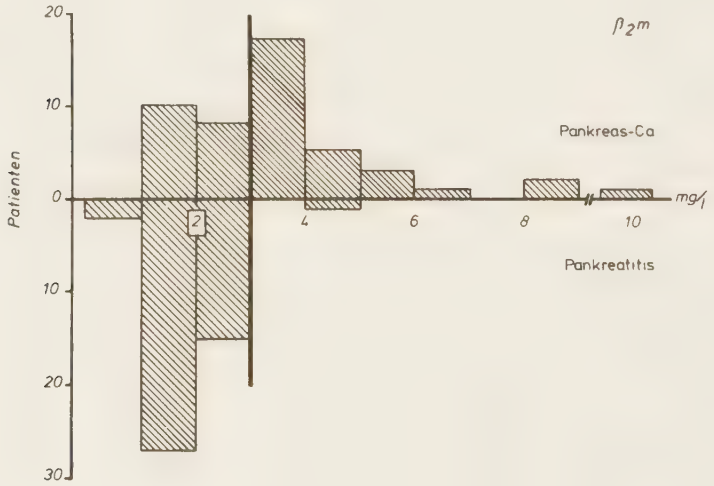


ABBILDUNG 25: Gegenüberstellung der Konzentrationsverteilungen von $ß_2$m bei chronisch rezidivierender Pankreatitis (unten) und Pankreas-Ca (oben).

Beim Vergleich der Konzentrationsverteilungen von CEA ist die Abgrenzung zwischen den beiden Krankheitsbildern nicht möglich. (s.Abb.26)
Tatsächlich fallen jedoch 81 % der CEA-Werte für das Pankreas-Ca in den pathologischen Bereich gegenüber nur 35,5 % der Werte für die chronisch rezidivierende Pankreatitis.

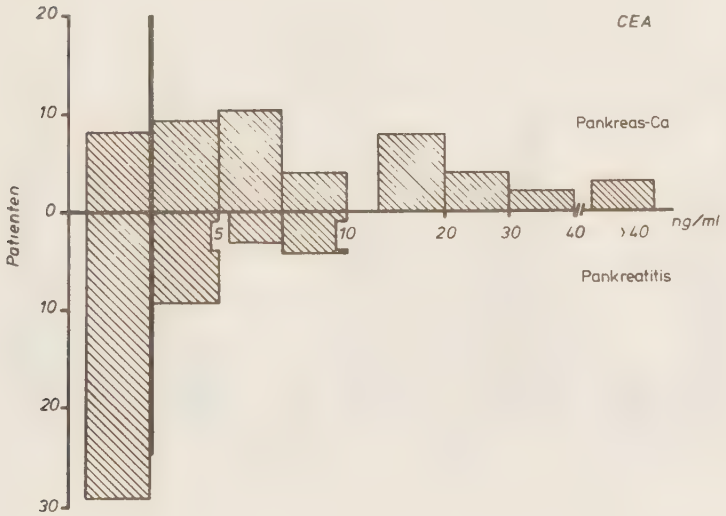


ABBILDUNG 26: Gegenüberstellung der Konzentrationsverteilungen von CEA bei chronisch rezidivierender Pankreatitis (unten) und Pankreas-Ca (oben).

Die Häufigkeit der pathologischen CEA-bzw. $ß_2$m-Werte bei Colorektaltumoren, Magenkarzinomen, Mamma-Karzinomen und verschiedenen anderen malignen Tumoren entspricht der von anderen Autoren, bzw. von uns festgestellten.

4.4.3.3. Darstellung der Einzelwerte der $ß_2$m- und CEA-Bestimmung für die verschiedenen Diagnosegruppen

Die Abbildung 27 gibt zunächst einen zusammenfassenden Überblick über die prozentuale Erhöhung der Meßwerte und Meßwertkombinationen von $ß_2$m und CEA in den einzelnen Diagnosegruppen.

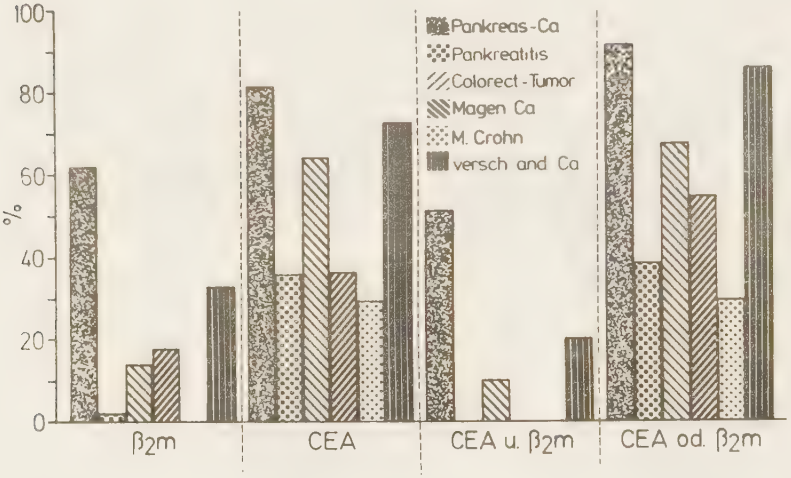
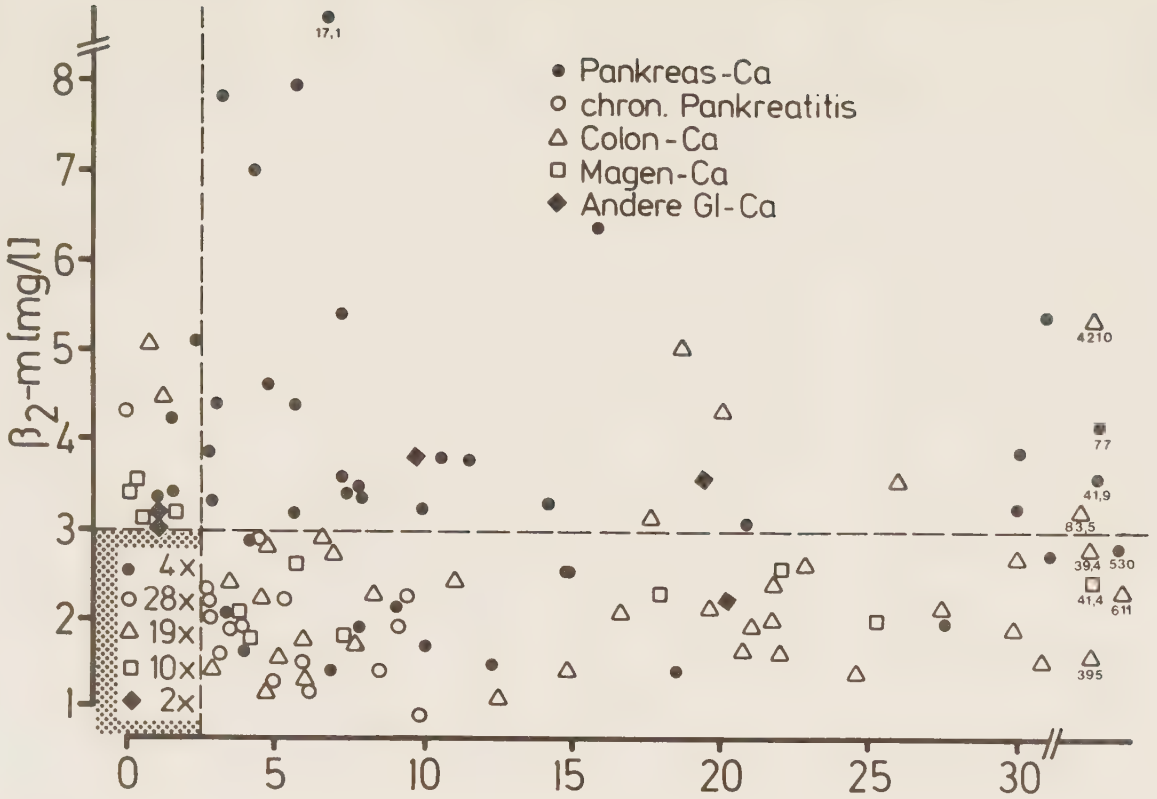


ABBILDUNG 27: Prozentuale Verteilung der Erhöhung von $ß_2$m und CEA

Die Einzelwerte der $ß_2$m - und CEA-Bestimmung für die verschiedenen Patientengruppen sind in der nächsten Abbildung dargestellt (s.Abb.28).
Es fällt auf, daß von 47 Patienten mit Pankreaskarzinom (symbolisiert durch die ausgefüllten Kreise) 24 Patienten (das sind 51 %) sowohl erhöhte CEA als auch erhöhte $ß_2$m-Werte zeigen. Insgesamt weisen 91,5 % der Patienten dieser Gruppe entweder einen erhöhten CEA-Wert oder einen pathologischen $ß_2$m-Wert auf. Nur bei vier Patienten sind beide Parameter im Referenzbereich.



ABBILDUNGß 28: Darstellung der Einzelwerte der ß$_2$m- und CEA-Bestimmung für die verschiedenen Diagnosegruppen (siehe Legende).

Demgegenüber finden wir bei Patienten mit chronisch rezidivierender Pankreatitis (symbolisiert durch die offenen Kreise), wie auch bei Patienten mit Morbus Crohn bei keinem Patienten einen erhöhten $ß_2$m oder CEA-Wert. Eine isolierte $ß_2$m-Erhöhung zeigte nur ein Patient mit Pankreaszyste und rezidivierender Pankreatitis. Bei colorektalen Tumoren zeigten nur 10 % der Patienten sowohl erhöhte $ß_2$m- als auch CEA-Werte, bei Magenkarzinom keine, bei Mamma-Karzinomen 6 %. Bei den übrigen Tumoren sind es hauptsächlich Gallenblasen-, Bronchial- und Leberkarzinome, die eine gleichzeitige Erhöhung der $ß_2$m- und CEA-Werte aufweisen.

3.3.3.4. Statistische Prüfung der gefundenen Abhängigkeiten

Wie schon im Kapitel Methodik erwähnt, wurden zur statistischen Auswertung insbesondere Prüfungen auf Abhängigkeit in entsprechenden Kontingenztafeln durchgeführt. Dabei wurden die Patienten nach der Diagnose in die Gruppen Pankreaskarzinom,chron.rez.Pankreatitis, Morbus Crohn und andere gastrointestinale Tumore aufgeteilt. Die Ergebnisse der $ß_2$m- und CEA-Bestimmung wurden in solche unter und über der oberen Referenzbereichsgrenze geordnet, um entsprechend den möglichen Kombinationen vier Klassen zu bilden.
Darüberhinaus wurden die Patienten in Anlehnung an den Medianwert der Altersverteilung in eine Klasse unter und über 60 Jahre sowie nach dem Geschlecht klassifiziert.
Untersucht wurden folgende Abhängigkeiten:

Diagnose und Wertmuster
$ß_2$m-Wert und Alter
$ß_2$m-Wert und Geschlecht
Alter und Diagnose.

Als Teststatistik wurde die asymptotisch, X^2-verteilte 2I-Statistik nach KULLBACK (75) verwendet. Alle statistischen Tests wurden auf dem Signifikanzniveau von 1 % durchgeführt. Zur Interpretation wurden als Maß für den Unter-

schied zwischen beobachteten und geschätzten Häufigkeiten in den Zellen der Kontingenztafeln die von KULLBACK und FISHER verwendete Größe, der sogenannte "Outlier" herangezogen.
Es soll hier noch einmal ausdrücklich darauf hingewiesen werden, daß die beobachtete Abhängigkeit zwischen Diagnose und Meßwertmuster in der statistischen Prüfung bestätigt wurde. Dieses Ergebnis kommt besonders deutlich in dem sogenannten "Outlier" zum Ausdruck, der eine statistische Meßzahl für die Abweichung von beobachteter und geschätzter Fallzahl in den einzelnen Zellen der Kontingenztafeln ist.

In der folgenden Tabelle (Tabelle 12) sind die größten Abweichungen bei Pankreaskarzinom für die Klasse erhöhte $ß_2$m- und CEA-Werte zu finden. Ein analoges Verhalten ist für normale Wertlagen zu beobachten. Ähnlich hohe Abweichungen, aber mit anderen Vorzeichen, finden sich für die Diagnosegruppe der "chronisch rezidivierenden Pankreatitis" und des Morbus Crohn, während bei den übrigen gastrointestinalen Tumoren die beobachteten Fallzahlen weitgehend den geschätzten Größen entsprechen.
Vergleichbare Ergebnisse zeigt die statistische Prüfung mit Hilfe der Diskriminanzanalyse. Die Diagnosegruppen Pankreaskarzinom und chronische Pankreatitis können über die CEA- und $ß_2$m-Konzentration mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit unter 1 % getrennt werden.
Unabhängig vom Geschlecht ergab sich eine Beziehung zwischen $ß_2$m-Werten und Alter, indem ältere Patienten höhere $ß_2$m-Werte aufwiesen. Als Wert für die 2 I-Statistik wurde X = 9,58 berechnet. Bei zwei Freiheitsgraden entspricht dies der Wahrscheinlichkeit p (2I $\rangle$ X) = 0.008.
Eine Beziehung zwischen $ß_2$m-Konzentration und Geschlecht bei vorgegebenem Alter konnte nicht nachgewiesen werden, da sich für den Wert der 2 I-Statistik X = 5,14 bei zwei Freiheitsgraden eine Wahrscheinlichkeit von p (2 I $\rangle$ X) = 0,08 ergab. Ebenso konnte mit einem Wert von X = 6,59 für die 2 I-Statistik, der bei vier Freiheitsgraden einer Wahrscheinlichkeit von p (2 I $\rangle$ X) = 0,16 entspricht,

Tabelle 12

Diagnosegruppe	Pankreaskarzinom			Pankreatitis			Morbus Crohn			and.gastrointest.Ca^{s}		
gefund.Fallzahl	24	29	38	0	1	16	0	0	8	6	6	24
geschätzte Fz.	9,9	15,1	27,6	10	14,7	18	9,5	11,5	18,3	18,8	5,25	23,4
"Outlier"	16	11,7	5,3	22	24,3	7,1	20,3	25	9	13,5	0,11	0,016
Wertmuster	β_2m ↑ + CEA ↑	β_2 m ↑	CEA ↑	β_2m ↑ + CEA ↑	β_2m ↑	CEA ↑	β_2m ↑ + CEA ↑	β_2m ↑	CEA ↑	β_2m ↑ + CEA ↑	β_2m ↑	CEA ↑

in dem Patientenkollektiv kein Zusammenhang zwischen Alter und Diagnosegruppe bei vorgegebenem Geschlecht festgestellt werden.

K A P I T E L 4

DISKUSSION

Das carcinoembryonale Antigen (CEA), das in dieser Studie als einer von zwei Testparametern dient, gehört seit seiner Erstisolierung durch GOLD und FREEDMAN 1965 (50) zu einem der bestuntersuchten "Tumorantigene". Was die klinische Bedeutung der CEA-Bestimmung anbelangt, so können wir uns heute auf zahlreiche Großstudien stützen, die in den vergangenen Jahren unternommen wurden. (16, 21, 22, 57, 96, 104, 148).
Die Bedeutung der CEA-Bestimmung liegt in der Verlaufsbeurteilung sowie Therapieüberwachung maligner Tumoren -besonders gastrointestinaler Tumoren- sowie in der frühzeitigen Erkennung eines Tumorrezidivs bzw. einer Metastasierung, wie es von GOLDENBERG 1979 in ausgezeichneter Weise in der Acta Hepato-Gastroenterologica dargelegt wurde. Für die Diagnostik ist sie wegen mangelnder Spezifität, besonders bei mäßig erhöhten CEA-Werten und geringer Empfindlichkeit im allgemeinen nicht geeignet. Eine gewisse Wertigkeit hat die CEA-Bestimmung bei Verdacht auf Pankreas-Karzinom, da dieses wegen der Organlokalisation meist nur durch invasive Verfahren diagnostiziert werden kann und man bei diesem Tumor relativ häufig erhöhte CEA-Werte findet (nach unseren eigenen Untersuchungen sind es über 60 % der Fälle). Die diagnostische Aussage ist jedoch auf Grund erhöhter CEA-Werte bei Pankreatitis sowie normaler Werte bei gesichertem Pankreas-Karzinom auch bei diesem Tumor eingeschränkt.
Gerade in der Diagnostik des "Early Cancer" des Gastrointestinaltraktes erlaubt die Bestimmung von CEA allein mit einer falsch negativen Rate von 50 bis 80 % (7, 4) kaum die Hoffnung auf eine entscheidende Verbesserung in der Frühdiagno - stik.
Eine weitere Einschränkung erfährt die Aussagekraft der CEA-Bestimmung durch die zahlreichen unspezifischen Faktoren, die andererseits zu falsch positiven Werten führen.

Die erhöhte CEA-Konzentration in entodermalen Karzinomen des Magens und Darms sowie des Pankreas (15, 28, 50, 51, 52, 67, 70, 71) ist nämlich nicht, wie ursprünglich von GOLD und Mitarbeitern (50) angenommen, die Folge einer neu einsetzenden Synthese nach Depressionen in der Embryonalzeit wirksamer Gene, sondern vielmehr Ausdruck einer großen Steigerung der in geringem Umfang in diesen Organen immer vorhandenen Synthese (67, 91).

Nun ist aber diese Synthesesteigerung nicht immer und nicht notwendigerweise verbunden mit einem neoplastischen Prozeß, sondern unspezifische "Reizfaktoren", wie sie z.B. im Rahmen entzündlicher gastrointestinaler Erkrankungen wie Morbus Crohn, Colitis ulcerosa (18), Divertikulitis und auch Pankreatitis auftreten, können zu einer wenn auch meist etwas geringeren CEA-Konzentrationssteigerung führen.

Gleiches ist auch für nichtmaligne Neoplasien wie Darmpolypen beschrieben (3, 15, 18, 67). Dazu kommt noch der seit langem bekannte Einfluß des Nikotinabusus, der ebenfalls die CEA-Werte anhebt. (Roche-Studie: 57). Der obere Referenzbereich für CEA nach dem Hansen-Assay (Roche) liegt bei 2,5 ng / ml. Dieser Wert kann aber nur für Nichtraucher als relevant gelten, denn 20 bis 40 % der gesunden Raucher liegen in ihren Plasma-CEA-Werten jenseits dieser Grenze, selten aber über 5 ng / ml (57). Dieser Umstand wurde in dieser Arbeit berücksichtigt und nur Nichtraucher, oder solche Patienten, die seit Jahren das Rauchen aufgegeben hatten, für die statistische Auswertung einbezogen.

Es zeichnet sich jedoch in jüngerer Zeit ein deutlicher Trend in Richtung auf eine Mehrgleißigkeit in der Frühdiagnostik ab, der sowohl auf dem apparativen Sektor offenbar wird, (Sonographie, Computertomographie, Nuklearmedizinische Diagnostik) als auch im klinisch-chemischen Bereich. Hier verspricht man sich durch die kombinierte Bestimmung zweier oder mehrerer sogenannter "Tumormarker" einen Fortschritt in der Treffsicherheit laborchemischer Untersuchungsmethoden.

Um nun in der Diagnostik gastrointestinaler Tumoren, insbesondere des Pankreaskarzinoms die differentialdiagnostisch relevanten Erkrankungen besser abgrenzen zu können, wurde

in dieser Arbeit ein zweiter Testparameter das $ß_2$-Mikroglobulin eingeführt. Das $ß_2$m schien uns auf Grund eigener Voruntersuchungen (6, 7, 40, 43) sowie wegen seiner von mehreren Autoren (68, 69, 106, 126, 141)angegebenen Konzentrationserhöhungen bei verschiedenen Neoplasien als besonders geeignet. Zudem sind für $ß_2$m seltener und geringer erhöhte Werte bei entzündlichen Erkrankungen beschrieben (26, 35, 126). Laborchemische Parameter, wie $ß_2$m und CEA sind vor allem dort von vorrangigem Interesse, wo eine Tumordiagnose auf Grund der Organlokalisation normalerweise nur mittels invasiver, den Patienten belastender Verfahren möglich ist.
Wir bestimmten die Plasmakonzentration von $ß_2$m und CEA mit Hilfe zweier kommerziell erhältlicher Radioimmunoassays bei insgesamt 243 Patienten mit solitären Karzinomen, bzw. entzündlichen gastrointestinalen Erkrankungen als Vergleichskollektiv.
Bei den von uns untersuchten 167 Malignomen wiesen 74 (= 44,3%) $ß_2$m-Werte über 2,4 mg/l, bzw. 48 (=28,7%) $ß_2$m-Werte über den zu 3,0 mg/l korrigierten Normbereich auf.
TEASDALE et al. (141) fand bei 42 % seiner 210 Karzinompatienten $ß_2$m-Werte über 2,4 mg/l, bzw. bei22 % Werte> 3,0 mg/l (141). Desgleichen beschrieb auch KITHIER et al (69) bei einem Kollektiv von 92 Patienten mit soliden Tumoren in 41 % der Fälle Werte über 2,5 mg/l. SHUSTER et al. (126, 127) untersuchte 213 Patienten mit gutartigen Erkrankungen und 130 mit soliden Karzinomen und stellte fest, daß bei 63 % der Patienten mit $ß_2$m-Werten über 3,0 mg/l ein maligner Tumor vorlag.
Unsere Ergebnisse stehen in gutem Einklang mit diesen früher erhobenen Befunden. Auffallend ist jedoch in unserem Kollektiv die Stellung des Pankreaskarzinoms, welches in 34 von 47 Fällen (=72 %) über 2,4 mg/l, bzw. in 29 von 47 Fällen (=62%) über 3,0 mg/l erhöht gefunden wurde. Demgegenüber zeigen alle anderen Karzinome nur in 15 Fällen (=15,4%) einen $ß_2$m-Anstieg über 3,0 mg/l. Noch signifikanter wird dieser Unterschied bei der gleichzeitigen Betrachtung von $ß_2$m und CEA.
Während 24 von 47 Pankreaskarzinomen (51 %) bezüglich beider Parameter deutlich erhöhte Werte zeigten, fanden sich nur bei

4 von 47 Pankreaskarzinompatienten hinsichtlich $ß_2$m und CEA normale Konzentrationen (=9,5%). Eine Erhöhung zumindest eines der Parameter fand sich in 91,5% der Fälle. Somit erhöht sich zwar die diagnostische Sensibilität bei Bestimmung beider Parameter allerdings auf Kosten eines Teiles der Spezifität.

Diese Sonderstellung des Pankreaskarzinoms konnte sowohl gegenüber der Patientengruppe mit anderen epithelialen Malignomen als auch gegenüber den Patienten mit chronischer Pankreatitis und Morbus Crohn statistisch gesichert werden. Bei der statistischen Auswertung wurde eine Abhängigkeit zwischen Diagnose und Meßwertmuster festgestellt. Dem gefundenen Wert der 2 I-Statistik X = 27,85 entspricht bei 6 Freiheitsgraden einer Wahrscheinlichkeit von p (2 I $\rangle$ X)= 0,0001. In der dazugehörigen Kontingenztafel mit 3x4 Zellen wurden die Unterschiede zwischen den beobachteten Häufigkeiten und den entsprechenden errechneten Schätzwerten betrachtet, die sich ergeben, wenn Unabhängigkeit zwischen Diagnose und Meßwertmuster angenommen wird.

Auch DAVER (27) fand bei 71% der Patienten mit Pankreaskarzinom entweder erhöhte $ß_2$m- oder CEA-Werte.

Besonders augenfällig wird die o.g. Sonderstellung des Pankreaskarzinoms bei der Betrachtung der Größe "Outlier" in den Zellen der Kontingenztafeln, die Fälle mit Pankreaskarzinom enthalten.(siehe Abb.29)

So werden in der Zelle mit Patienten, die an einem Pankreaskarzinom erkrankt sind und eine normale $ß_2$m-und CEA-Plasmakonzentration aufweisen, nur 4 Fälle beobachtet, aber 16 Fälle erwartet - umgekehrt werden 24 Patienten mit Pankreaskarzinom beobachtet, die sowohl erhöhte $ß_2$m-Werte als auch erhöhte CEA-Werte aufweisen, während nur 9,9 Fälle geschätzt werden. In Abb.29 sind diese Beziehungen näher dargestellt. Die schraffierte Säule, jeweils links, entspricht der beobachteten Fallzahl in den einzelnen Zellen, die offene Säule der nach den Kontingenztafeln geschätzten Fallzahl und die Höhe der weißen Säule rechts entspricht der errechneten statistischen Abweichung, dem Outlier.

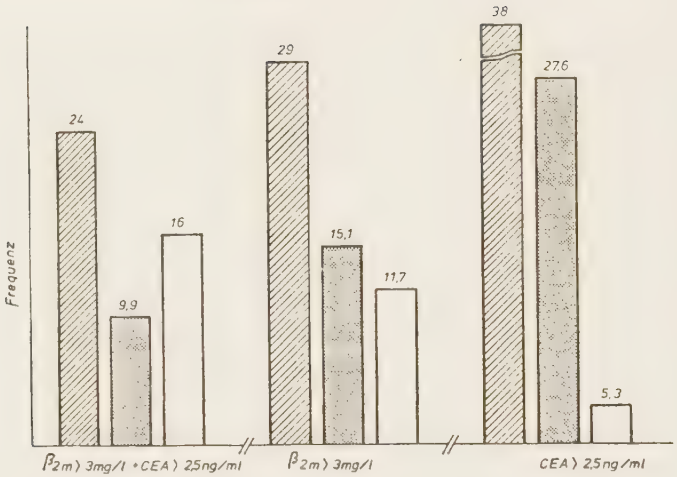


ABBILDUNG 29: Pankreaskarzinom (Outlier)

Die schraffierte Säule, jeweils links, entspricht der beobachteten Fallzahl in den einzelnen Zellen, die offene Säule der nach den Kontingenztafeln geschätzten Fallzahl und die Höhe der weißen Säule rechts entspricht der errechneten statistischen Abweichung, dem Outlier.

Ähnlich hohe, ja zum Teil noch höhere (Outlier=25) Abweichungen, aber mit anderen Vorzeichen, finden sich in den Diagnosegruppen "chronisch rezidivierende Pankreatitis" und Morbus Crohn. So liegt hier z.B. die gefundene Fallzahl in den Zellen mit β_2m 3 mg/l bei 1 bzw.0 (!), wohingegen nach der Wahrscheinlichkeitsrechnung 14,7 bzw. 11,5 Fälle zu erwarten gewesen wären. (Abb. 30 und 31).

Die differentialdiagnostische Unterscheidung dieser wichtigen Krankheitsgruppen wird, wie man sehen kann, erleichtert durch das nahezu spiegelbildlich entgegengesetzte Verhalten der Meßwertgrößen bei Betrachtung der Unterschiede zwischen erwarteten und gefundenen Häufigkeiten.

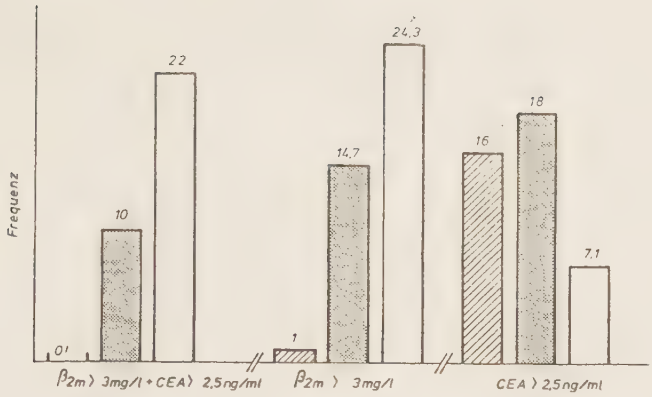


ABBILDUNG 30: Chronisch rez. Pankreatitis (Outlier)

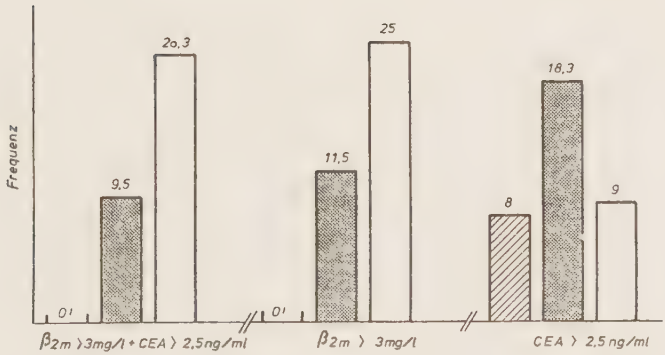


ABBILDUNG 31: Morbus Crohn (Outlier)

In der Gruppe der übrigen gastrointestinalen Tumoren entsprechen in den Einzelwerten für $ß_2m$ und CEA die beobachteten Fallzahlen weitgehend den geschätzten Größen (Abb.32). In der Zelle für eine simultane Erhöhung von $ß_2m$ und CEA werden sogar wesentlich mehr Patienten erwartet (18,8) als gefunden (6).

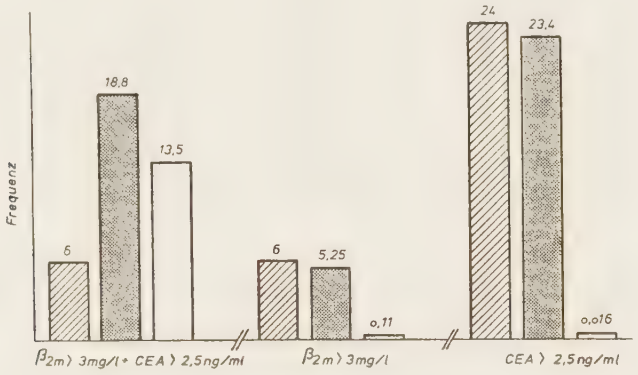


ABBILDUNG 32: Andere gastrointestinale Karzinome (Outlier)

Zur weiteren Prüfung der differentialdiagnostischen Wertigkeit einer gleichzeitigen Bestimmung von $ß_2m$ und CEA wurde für die Diagnosegruppe Pankreaskarzinom und chronisch rezidivierende Pankreatitis zusätzlich eine statistische Untersuchung mit Hilfe der Diskriminanzanalyse durchgeführt. Dabei zeigt sich, daß im untersuchten Kollektiv mit Hilfe dieser beiden Parameter eine Zuordnung in die Gruppe der Tumorpatienten bzw. der entzündlichen Erkrankungen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit unter 5 % getroffen werden kann.

Inzwischen sind die von uns erstmals 1978 bei geringerer Fallzahl erhobenen Befunde auch von anderen Autoren bestätigt worden.

Dies ist insbesondere für die differentialdiagnostische Abgrenzung des Pankreaskarzinoms gegen die chronische Pankreatitis von klinischem Interesse.

So bietet die alleinige CEA-Bestimmung bei mäßig erhöhten Werten zwischen 5 und 10 ng/ml keine Möglichkeit zur Differenzierung zwischen chronischer Pankreatitis und Pankreaskarzinom, da gerade bei chronischer Pankreatitis sowohl von uns als auch von anderen Autoren (14, 27 29, 48, 66, 98, 136) in ca. 40 % der Fälle dermaßen erhöhte CEA-Werte gefunden wurden.
Erst durch die gleichzeitige Bestimmung von $ß_2$m und CEA wird nach unseren Ergebnissen diese Unterscheidung möglich.
Nur einer von 45 unserer Patienten mit klinisch gesicherter chronischer Pankreatitis zeigte einen $ß_2$m-Wert oberhalb des Normbereiches, wobei bei diesem Patienten zusätzlich noch eine knapp kindskopfgroße Pankreaspseudocyste diagnostiziert war. Dieser Befund für chronische Pankreatitis steht z.T. im Widerspruch zu den Ergebnissen anderer Autoren (27), die allerdings in ihren Arbeiten den Einfluß des Alters (s.u.) auf die $ß_2$m-Konzentration nicht berücksichtigten. Zudem überblickten sie auch nur eine geringe Fallzahl und nahmen offenbar keine klare Abgrenzung der chronisch rezidivierenden gegen die akute Pankreatitis vor. Auch im Vergleich mit unseren Patienten mit anderen solitären epithelialen Tumoren nimmt die Gruppe mit Pankreaskarzinom eine signifikante Sonderstellung ein.
So waren die $ß_2$m bzw. CEA- Werte in der Diagnosegruppe Colorektale Karzinome (n=58) nur in 13,8 %, bzw.64 % erhöht. (auffällig hier vor allem das $ß_2$m!) Für die Diagnosegruppe Magen-Ca (n=22) ergab sich eine $ß_2$m bzw. CEA-Erhöhung in nur 18 % bzw. 36 %, wobei zusätzlich auffällt, daß beim Magen-Ca die $ß_2$m-Erhöhung nicht nur selten, sondern offensichtlich auch unabhängig vom Tumorstadium anzutreffen ist.
In der Diagnosegruppe Mamma-Ca (n=17) fanden sich zu 6 % bzw. 23,5 % erhöhte $ß_2$m und CEA-Werte, für Uterus-Ovarial-Ca^S (n=8) gar nur 0 % bzw. 12,5 % und bei den restlichen solitären Tumoren (n=15) in 33 % erhöhte $ß_2$m und in 60 % erhöhte CEA-Werte. Insgesamt zeigten 44 % dieser Patienten für beide Parameter Werte im Referenzbereich und nur 16 (13%) Patienten eine Erhöhung beider Werte. Die Häufigkeit erhöhter $ß_2$m-Werte bei Bronchial,- Mamma- und Gastrointestinalen Tumoren wurde von anderen Autoren höher angegeben (68, 69, 126, 141, 145).

Da es sich bei dem von uns untersuchten Patientenkollektiv um nierengesunde Patienten mit u.a. normalen Kreatininwerten (< 115 Umol/l) handelt und die Niere erwiesenermaßen fast der alleinige Abbau-bzw. Ausscheidungsort für $ß_2$m ist (11), können die erhöhten $ß_2$m-Plasmakonzentrationen nicht durch eine eingeschränkte Elimination bedingt sein, sondern müssen auf eine gesteigerte $ß_2$m-Synthese im Organismus zurückgeführt werden.
Eine gesteigerte Synthese ist bereits bei einer Reihe anderer neoplastischer Erkrankungen (35, 41, 68, 69, 126) beim Tumorträger bzw. in der Zellkultur verschiedener neoplastischer Zelllinien (12, 36, 37, 59) nachgewiesen worden (HÜTTENROTH) und darf als allein verantwortlich für die Konzentrationsanstiege an $ß_2$m gelten. Dies gilt auch unter Maßgabe des Umstandes, daß mit der von uns regelmäßig durchgeführten Serum-Kreatininbestimmung oder einer Clearance-Bestimmung nur eine Einschränkung der glomerulären Filtrationsrate erfaßt wird. Wenn man mit diesen Methoden eine mäßige tubuläre Nierenschädigung auch nicht ausschließen kann, so würde ein derartiger Nierenfehler jedoch eher zu einer erhöhten Ausscheidung von $ß_2$m im Urin führen als zu einem Anstieg in der Serumkonzentration.

Aber auch bei einer sowohl glomerulär wie tubulär normalen Nierenfunktion könnte man erwarten, daß eine vermehrte Synthese von $ß_2$m im Rahmen des neoplastischen Geschehens wegen der freien glomerulären Filtrierbarkeit des Globulins weniger zu einer Steigerung der Serumkonzentration als vielmehr zu einer vermehrten Ausscheidung über den Urin führt.
Nun ist aber andererseits bekannt, daß $ß_2$m nach seiner Filtration im proximalen Tubulus fast vollständig rückresorbiert wird. Wie Versuche ergaben, hat dieser Rückresorbtionsmechanismus an der gesunden Niere eine derart große Kapazität, daß er $ß_2$m-Serumkonzentrationen von mehr als dem zehnfachen der Normalkonzentration aufrecht zu erhalten imstande ist.(65) Zudem ist der renale Katabolismus für $ß_2$m der gleiche wie für alle anderen niedermolekularen Serumproteine und unterliegt einer Sättigungskinetik. Erhöhte $ß_2$m-Serumspiegel führen nicht zu erhöhtem renalen Katabolismus.

Die Gründe für eine gesteigerte $ß_2$m-Synthese bei bestimmten Patienten mit Malignomen sind nicht bekannt. Es könnten zum einen die malignen Zellen selbst $ß_2$m vermehrt produzieren, zum anderen können aber auch andere als die Tumorzellen, z.B. lymphoide Zellen für die gesteigerte Synthese verantwortlich sein - etwa im Verlauf einer unspezifischen Stimulierung dieser Zellen im Rahmen des neoplastischen Prozesses.
Für die Theorie einer indirekten Lymphozytenstimulierung als Ursache für den Konzentrationsanstieg sprechen die Befunde, daß bei in-vitro-Versuchen von mitogenstimulierten Lymphozyten und lymphoblastoiden Zellinien mehr $ß_2$m sezerniert wird als von nicht stimulierten Zellkulturen (106).
Für die Theorie einer direkten Verursachung durch den Tumor selbst sprechen andererseits die folgenden in-vitro-Befunde:

1.) Es wurde nachgewiesen, daß maligne Zellen nicht etwa mehr $ß_2$m-Moleküle auf der Zelloberfläche tragen, sondern sie vielmehr nur schneller und in größeren Mengen in das Kulturmedium freisetzen als normale Zellen (106).
2.) Zudem ist $ß_2$m in kovalenter Bindung am HLA-Antigen, aber auch Bestandteil der Zellmembran. Somit wäre anzunehmen, daß ein beschleunigter Zellmembranumsatz bei der hohen Proliferationsrate einer Neoplasie ebenso wie der gesteigerte Zelluntergang in den Nekrosezonen eines Tumors der vermehrten $ß_2$m Ausschüttung aus Membranen zugrunde liegen.

Möglicherweise sind aber auch all diese Faktoren in mehr oder minder großem Umfang zugleich für die hohen $ß_2$m-Spiegel verantwortlich.
Bemerkenswerterweise zeigten völlig identische, histopathologisch definierte Malignome bei verschiedenen Patienten ein sehr uneinheitliches Verhalten sowohl bezüglich der $ß_2$m als auch der CEA-Konzentration. Somit konnte bis heute noch nicht geklärt werden, welche Zellen unter welchen Bedingungen und in welchen Phasen der Neoplasie für die $ß_2$m-Synthese verantwortlich sind und unter welchen Voraussetzungen eine vermehrte Produktion einsetzt.
Hinsichtlich der Organlokalisation der Tumoren mit gesteigerter $ß_2$m-Synthese wurde bisher beschrieben, daß bei gastrointestinalen Tumoren häufiger erhöhte $ß_2$m-Werte auftreten als bei anderen solitären Tumoren (141). Auch wir fanden bei unseren Pankreas,-

Colorektal - und Magenkarzinomen häufiger und höher gesteigerte $ß_2$m-Werte als z.B. bei den Mamma, - Uterus- und Ovarialkarzinomen.
In der Zellkultur produzieren sowohl maligne wie nicht maligne Zellen $ß_2$m (12, 36). Sie unterscheiden sich lediglich in ihrer Syntheserate (106).

Bezüglich der Art der Neoplasie und Syntheserate bzw. Plasmakonzentration für $ß_2$m in der Zellkultur fanden sich bisher keine auffälligen Unterschiede zwischen den einzelnen Malignomgruppen sondern vielmehr häufiger eine sehr große Schwankungsbreite innerhalb identischer Gruppen. Somit besteht hier eine Diskrepanz zwischen den meisten klinischen Befunden und den in vitro erhobenen Messungen an Zellkulturen.
Eine Ausnahme dabei bilden einige maligne lymphoide Zellinien: So fand man z.B. bei bestimmten Lymphomen, wie Burkitt- Lymphom und Lymphogranulomatose geringer und seltener erhöhte $ß_2$m-Konzentrationen (37). Dagegen ergaben Bestimmungen an lymphoblastoiden Zellinien (Plasmocytom, andere monoklonale Gammapathien) die bisher höchsten Werte für $ß_2$m (bis über 30 mg/l) (37). Dabei fand sich keine Korrelation zwischen der Konzentration an monoklonalen Immunglobulinen und der für $ß_2$m.
Eine mögliche Beeinflussung der Meßergebnisse für $ß_2$m durch den bekannten (38, 141) und auch von uns bestätigten altersbedingten Anstieg der $ß_2$m-Konzentrationen ist zu diskutieren: EVRIN und WIBELL (35) berichteten von einem Anstieg der $ß_2$m-Werte um 0,12 mg/l pro Dekade bei der Untersuchung der Serum-Konzentrationen von 61 Frauen zwischen 17 und 76 Jahren. In einer Studie von TEASDALE et al., die 210 Patienten mit malignen und nicht malignen Erkrankungen umfaßt, (Durchschnittsalter: 49,4 a) wurde für den Altersbereich zwischen 19 und 80 Jahren eine Zusahme der $ß_2$m-Konzentration von 0,24 mg/l = 15,3 % pro Dekade gefunden (141).Die Ursache für diese altersbedingte Konzentrationszunahme dürfte zum größten Teil auf die mit zunehmendem Alter abnehmende glomeruläre Filtrationsleistung der Nieren zurückzuführen sein, welche wegen der bei alten Menschen gleichzeitig reduzierten Muskelmasse nicht notwendigerweise immer von einem Anstieg der Serumkre-

atininwerte begleitet sein muß. Wegen des relativ hohen Durchschnittsalters von 60 Jahren der Karzinompatienten ist zu fragen, ob die beschriebenen erhöhte Werte nicht lediglich altersbedingt sind.
Wir haben diesen Faktor jedoch schon bei der Festlegung der Grenzkonzentrationen von 3 mg/l berücksichtigt. Auch nach dieser Korrektur bleiben die $ß_2$m-Werte für das Pankreaskarzinom weiter deutlich erhöht, während bei den übrigen Tumoren nur noch 18 von 120 Patienten erhöhte $ß_2$m-Werte aufweisen.

Pankreatitis:	2 %	3,0 mg/l
Colorektale Ca:	18,8 %	3,0 mg/l
Magen-Ca:	18,0 %	3,0 mg/l
Mamma-Ca:	6,0 %	3,0 mg/l
Uterus-Ovarial-Ca:	0 %	3,0 mg/l
andere Ca:	33 %	3,0 mg/l
Morbus Crohn:	0 %	3,0 mg/l

Der altersbedingte $ß_2$m-Konzentrationsanstieg kann somit nicht ursächlich für die gefundene Signifikanz verantwortlich gemacht werden.
Eine derartige Altersabhängigkeit ist für CEA nicht beschrieben. Somit konnte hier der vom Hersteller des CEA-RIA-Kits angegebene Referenzbereich als Grundlage dienen. Auch andere Autoren haben bereits eine Referenzbereichsgrenze von 3,0 mg/l für $ß_2$m gewählt. SHUSTER, GOLD und POULIK (126) wählten bei ihren Untersuchungen an 110 Karzinompatienten ebenfalls aus Gründen des Altersanstieges für $ß_2$m diese Grenze und bestätigen, daß damit das "gesamte Altersspektrum einer Population erfaßt ist" (Zitat). Allerdings beschreiben sie auch Erhöhungen ($>$3,0 mg/l) bei einigen nicht malignen Erkrankungen, so in 6 von 14 Fällen von Virushepatitis, 3 von 13 Fällen bei Leberzirrhose und in 4 von 12 Fällen chronischer Hepatitis. In der Gruppe der soliden Tumore fanden sie die höchsten Werte bei 26 von 78 Bronchialkarzinomen (insgesamt 45 von 110 Patienten $ß_2$m positiv).
Da in unserem Patientenkollektiv nur drei Bronchialkarzinome enthalten sind und davon nur ein Patient mit 3,43 mg/l einen erhöhten Wert zeigt - andererseits aber von SHUSTER et al.

nur vier Pankreaskarzinome (1 x $ß_2$m positiv) untersucht wurden, kann man auf Grund des unterschiedlichen Patientengutes diese beiden Studien nicht vergleichend interpretieren.

DAVER et al. (26) fand bei 299 unbehandelten Patienten mit den verschiedensten solitären Karzinomen in 60 % $ß_2$m-Werte über 2,4 mg/l. Er bestimmte auch das CEA und fand es in diesem Kollektiv in 53 % der Fälle erhöht, wobei für mindestens einen der beiden Parameter bei gemeinsamer Betrachtung eine Positivitätsrate von 77 % gefunden wurde. DAVER 's Befunde und ähnliche von E.PLUYGERS (113) stehen insoweit im Gegensatz zu unseren Ergebnissen, als diese beiden Autoren in ihren Kollektiv häufiger erhöhte $ß_2$m- als CEA-Werte beschreiben. Das führt wieder zurück zum Problem des Referenzbereiches für $ß_2$m und dessen Altersabhängigkeit: DAVER und PLUYGERS betrachteten bei ihren Untersuchungen Werte über 2,4 mg/l bzw. 2,22 mg/l als erhöht.
Angesichts der Tatsache, daß auch bei unseren 167 Karzinompatienten 44,3 % $ß_2$m-Konzentrationen über 2,4 mg/l bzw. 54,5 % $ß_2$m-Konzentrationen über 2,22 mg/l aufweisen, erscheint dieser Widerspruch dann nur noch leicht gradueller Natur.
Zudem stimmen DAVER's Befunde (26) bezüglich der Patientengruppe Pankreaskarzinom mit einer $ß_2$m-Erhöhung von 11 von 18 (61 %) sehr gut mit unseren Ergebnissen überein (29 von 47 = 62 %). Dazu kommt, dass auch DAVER bei gleichzeitiger Bestimmung des CEA eine Erhöhung der "Trefferquote" um 5/18 (=28%) für das Pankreaskarzinom finden konnte, wobei sich allerdings in seinem Kollektiv das Pankreaskarzinom bezüglich des Verhaltens der beiden Testparameter nicht so deutlich von den anderen Tumorgruppen abgrenzte.
TEASDALE et al (141) weisen in ihrer Studie über $ß_2$m bei verschiedenen Karzinomen auf eine besondere Abhängigkeit der $ß_2$m-Konzentrationen vom Geschlecht hin. Sie fanden es bei Frauen wesentlich häufiger erhöht und führten aus, daß diese Geschlechtsunterschiede sogar größer waren als die Unterschiede zwischen der Karzinom- und der gesunden Kontrollgruppe.
Diese von TEASDALE beschriebene Geschlechtsabhängigkeit ist aber bisher von keiner anderen Arbeitsgruppe bestätigt worden. Auch wir müssen die Theorie einer Abhängigkeit von $ß_2$m-Konzen-

tration und Geschlecht auf Grund unserer Befunde ablehnen.
Zu diskutieren bleibt noch die von verschiedenen Autoren beschriebene Abhängigkeit der CEA- bzw. $ß_2$m-Serumwerte vom Tumorstadium und der Tumormasse (113, 141).
Für CEA besteht nach einer Übersicht bei FATEH-MOGHADAM eine gewisse Korrelation zwischen der Plasmakonzentration des Antigens und der Tumorausbreitung.
Das gilt z.B. für Darmtumoren bei Betrachtung nach der Dukesschen Klassifikation (22, 31, 33, 79, 90, 119, 129, 147).
Ebensolche Ergebnisse fanden sich für das Mammakarzinom bei Betrachtung nach zunehmendem Ausbreitungsgrad (79, 132).
Dennoch wurde keine direkte Beziehung zwischen Plasmaspiegel an CEA und dem Tumor bzw. Gewebs-CEA-Gehalt gefunden (67) ebensowenig eine direkte Beziehung zwischen CEA-Spiegel und Tumordifferenzierung (79,95).
Insgesamt betrachtet, kommt aber bei allen CEA-Studien zum Ausdruck, daß statistisch eine deutliche Korrelation zwischen CEA-Wert und Tumorgröße bzw. Metastasierung besteht.
In unserem Kollektiv ist die gleiche Tendenz zu höheren CEA-Werten vor allem in der Gruppe der Colon, Magen- und Mamma-Karzinome zu finden, soweit sichere Angaben über das Tumorstadium vorlagen.
(Anmerkung: Es handelt sich hier um eine zum Teil retrospektive Studie, bei der wir an nur zwei mitbeteiligten Kliniken Einsicht in alle Krankenblätter nehmen konnten. Das Plasma einiger anderer Patienten wurde von auswärtigen Kliniken übersandt und Krankenblätter, OP - Berichte oder Sektionsprotokolle standen zum Teil nicht mehr zur Verfügung.)

Schwieriger gestaltet sich die Interpretation für die Diagnosegruppe Pankreaskarzinom. Hier konnte nicht für alle Patienten ein klinisch gesichertes Tumorstadium festgelegt werden, dies zum Teil aus den in der Anmerkung erwähnten Gründen, teils weil die Autopsie verweigert wurde. So konnte lediglich für 18 von 47 Patienten nach Probelaparatomie die Diagnose "inoperabel" erhoben werden. Weitere drei Patienten waren "sicher operabel" (Tumorstadium 1, bzw. 2). Es verbleiben 26 Patienten mit zwar histologisch gesichertem Pankreaskarzinom, jedoch ohne sichere Klassifikation, ob operabel oder inoperabel.

In der Gruppe der inoperablen Patienten fand sich zwar mit 17,12 mg/l der höchste Wert für $ß_2$m und mit 530 ng/ml der dritthöchste für CEA. Andererseits wies ein Patient mit gut operablem Pankreaskarzinom mit 8,33 mg/l die zweithöchste $ß_2$m-Plasma-Konzentration des gesamten Kollektivs auf.
Die Mittelwerte von $ß_2$m für inoperable und nicht sicher inoperable Pankreaskarzinome lagen ebenfalls mit 3,67 mg/l bzw. 3,68 mg/ l äußerst nahe zusammen.
Für CEA betrugen diese Durchschnittswerte 40,88 ng/ml, bzw. 11,27 ng/ml, also bei den sicher inoperablen Pankreas deutlich höher. Das dürfte in der Hauptsache durch die lange bekannten Befunde zu begründen sein, daß bei metastasierenden Tumoren die häufigsten und höchsten CEA-Plasmaspiegelerhöhungen anzutreffen sind.
Für $ß_2$-Mikroglobulin sind die Angaben der Literatur über einen Konzentrationsanstieg des Globulins mit wachsender Tumormasse nicht so einheitlich wie für CEA. Insbesondere finden sich erhebliche Variationen innerhalb der verschiedenen Tumorklassen.
Zwar weisen EVRIN und WIBELL (35) und andere Autoren (6, 40, 141) auf einen allgemeinen Trend zu höheren Werten bei fortgeschrittenen Malignomen hin - allerdings mit Ausnahmen.
So finden ADAMI et al. (2) bei ihren $ß_2$m-Messungen an 129 Patienten mit Mammakarzinomen aller Stadien keinerlei Korrelation zwischen TNM-Stadien und $ß_2$m-Konzentrationen. Auch in unserem kleinen Kollektiv (n=17) zeigt z.B. nur eine von 7 Patientinnen mit Mamma-Ca im Stadium 4 einen $ß_2$m-Wert über 3,0 mg/l.
Ein ähnliches Verhalten zeigt bei uns die Diagnosegruppe Magen-CA, ein Befund, der mittlerweile von AUER et al. (im Druck) bestätigt wurde.
DAVER et al.(27) fand unter den 31 Pankreaskarzinomen seines Tumorkollektivs sowohl für $ß_2$m- wie für die CEA-Positivitätsraten eine deutliche Abhängigkeit vom Tumorstadium.
Die Tatsache, daß man sowohl für die $ß_2$m- wie auch in höherem Maße für den CEA-Spiegel eine Zunahme mit der Tumorausbreitung annehmen muß, schränkt die diagnostische Aussagekraft für die Frühdiagnostik ein. Insgesamt müssen beim diagnostischen Ein-

satz von $ß_2m$ und CEA und der Interpretation der Ergebnisse in jedem Einzelfall die verschiedenen Einflußfaktoren, wie eingeschränkte Nierenfunktion, Rauchen, usw. genau berücksichtigt werden und immer die Anamnese, der klinische Befund und die Ergebnisse radiologischer, endoskopischer und bioptischer Untersuchungen in die differentialdiagnostischen Überlegungen einbezogen werden.

Unter Berücksichtigung dieser Faktoren stellt die gleichzeitige Bestimmung von $ß_2m$ und CEA bei bestehendem Verdacht auf ein Pankreaskarzinom ein zusätzliches routinemäßig anwendbares Hilfsmittel dar.

K A P I T E L 5

ZUSAMMENFASSUNG

Die Bedeutung der CEA-Bestimmung liegt in der Verlaufsbeurteilung sowie Therapieüberwachung maligner Tumoren. Für die Diagnostik ist sie wegen mangelnder Spezifität besonders bei mäßig erhöhten CEA-Werten und geringer Empfindlichkeit im allgemeinen nicht geeignet. In den letzten Jahren wurde deshalb versucht, entweder durch Bestimmung von organspezifischen "Tumorantigenen" oder durch gleichzeitige Bestimmung verschiedener Parameter Testsysteme mit erhöhter Spezifität und evtl.größerer Empfindlichkeit zu entwickeln.

Unser Ziel war es, mit Hilfe der CEA- und $ß_2$-Mikroglobulin- Bestimmung die Differenzierung des Pankreaskarzinoms gegenüber der differentialdiagnostisch infrage kommenden, chronisch rezidivierenden Pankreatitis, entzündlichen Darmerkrankungen und colorektalen Tumoren zu verbessern und so einen Beitrag in der Diagnostik des Pankreaskarzinoms zu leisten.

Wir untersuchten Plasmaproben von 325 Patienten, 47 mit Pankreaskarzinom, 80 mit anderen gastrointestinalen Tumoren, 40 mit anderen soliden Tumoren, 45 mit chronisch rezidivierender Pankreatitis, 31 mit Morbus Crohn, 4 mit anderen entzündlichen Darmerkrankungen sowie von 78 klinisch und laborchemisch gesunden Probanden. Bei 24 der 47 Patienten mit Pankreaskarzinom (51 %) fanden sich sowohl erhöhte $ß_2m$- als auch erhöhte CEA-Werte. 81 % der Patienten dieser Gruppe (n=38) hatten einen erhöhten CEA-Wert, 62 % (n=29) einen erhöhten $ß_2m$-Wert und nur 4 Patienten (8%) hatten hinsichtlich beider Parameter im Referenzbereich liegende Werte. Demgegenüber wurde bei chronisch rezidivierender Pankreatitis wie auch bei Patienten mit Morbus Crohn und anderen entzündlichen Darmerkrankungen bei keinem Patienten ein erhöhtes $ß_2m$ oder CEA gemessen, mit einer Ausnahme eines Patienten mit chronisch rezidivierender Pankreatitis und gleichzeitig bestehender kindskopfgroßer Pankreaspseudozyste. Von den übrigen Patienten mit gastrointestinalen Tumoren zeigten nur 6 (5%) eine gleichzeitige Erhöhung von $ß_2m$ und CEA, wobei die $ß_2m$-Werte nur geringfügig über dem oberen Referenzbereich lagen.

Die beobachtete Abhängigkeit zwischen Diagnose und Meßwertmuster wurde in der statistischen Prüfung bestätigt.

Aus den Ergebnissen kann gefolgert werden, daß in der Diagnostik des Pankreaskarzinoms, insbesondere in der klinisch wichtigen Abgrenzung zur chronischen Pankreatitis, entzündlichen Erkrankungen des Darmes und anderer gastrointestinaler Tumoren durch eine gleichzeitige Bestimmung von CEA und $ß_2$-Mikroglobulin eine erhöhte Spezifität erreicht werden kann. Bei Vorliegen einer Pankreaserkrankung weist die gleichzeitige Erhöhung von $ß_2$m und CEA auf das Vorliegen eines Pankreaskarzinoms hin; sind beide Werte im Referenzbereich, so ist die Wahrscheinlichkeit für ein Pankreaskarzinom gering.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ABELEV,G.I.:
Alpha-fetoprotein in ontogenesis and its association with malignant tumors. In: KLEIN, G., WEINHOUSE, S., HADDOW, A. (Eds.),
Advances in Cancer Research, Vol. 14,p.295.New York-London: Academic Press 1971.

2. ADAMI, H.O., R. HÄLLGREN, G. LUNDQUIST :
Serum $ß_2$-microglobulin in women with breast cancer and in age-matched, non-hospitalized controls.
Clinica Chimica Acta 93, 43 - 49, (1979).

3. ALM, T., B. WAHREN :
Carcinoembryonic antigen in hereditary adenomatosis of the colon and rectum.
Scand.J.Gastroent. 10, 875, (1975).

4. AUER, I.O., L.MÜNCH, J.EPPING, L.SCHMID :
Die klinische Aussagekraft der Plasmakonzentration des carcinoembryonalen Antigens (CEA) bei der Erstdiagnose von Malignomen des Verdauungstraktes.
Z.Gastroent. 15, 491, (1977).

5. AUER,I.O., L.SCHMID, E.ZIEMER, H.SOMMER, J.EPPING :
Die klinische Wertigkeit der Plasma-CEA-Konzentration zur Aktivitätskontrolle chronisch entzündlicher Darmerkrankungen.
In: Lehmann, F.G. : Tumorantigene in der Gastroenterologie (Demeter: Gräfelfing) 109, (1976).

6. AUER, I.O. :
Das carcinoembryonale Antigen bei Karzinomen des Verdauungstraktes.
Dtsch.med.Wschr. 102, 1101 (1977) .

7. AUER, I.O., L.MÜNCH, J.EPPING, L.SCHMID :
Die klinische Wertigkeit der Plasma-CEA-Konzentration bei der Erstdiagnose von Malignomen des Verdauungstraktes.
In: Lehmann : Tumorantigene in der Gastroenterologie. 75, Demeter. (1976).

8. BERGGARD, J., A.G.BEARN :
Isolation and properties of a low molecular weight $ß_2$m occurring in human biological fluids.
J.biol.Chem. 243, 4095 (1968).

9. BERGGARD,J. :
Plasma proteins in normal human urine.
S.Karger Basel: Proteins in normal and pathological urine. (1970).

10. BERNIER,G.M., R.I.COHEN, M.E.CONRAD :
Microglobulinemia in renal failure.
Nature, 218, 598 (1968).

11. BERNIER,G.M., M.E.CONRAD :
Catabolism of human $ß_2$m by the rat kidney.
Am.J.Physiol. 217, 1359 (1969).

12. BERNIER,G.M., M.W.FANGER :
Synthesis of the $ß_2$m by stimulated lymphocytes.
J.Imm., 109, 407 (1972).

13. BODANSKY,O.:
Reflections on biochemical aspects of human cancer.
Cancer 33, 364-370, (1973).

14. BOOTH,S.N., J.P.KING, J.C.LEONARD, P.W.DYKES :
Serum carcinoembryonic antigen in clinical disorders.
Gut 14, 794 (1973).

15. BORDES,M., R.MICHIELS, F.MARTIN :
Dedection by immunofluorescence of carcinoembryonic antigen in colonic carcinoma, other malignant or benign tumours, and non-cancerous tissues.
Digestion 9, 106 (1973).

16. BOUNAMEAUX,Y., and M.LE DAIN :
Carcinoembryonic antigen (CEA) assay; preliminary results of clinical evaluation.
In: Abstracts of the 11th International Cancer Congress, Florence, 2o-26 Oct.1974.
Vol.1: Conferences, Symposia, Wrkshops, p.350.
Milano: Casa Editrice Ambrosiana 1974.

17. BROCK,D.J., R.G.SUTCLIFFE :
Alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida.
Lancet II, 197 (1972).

18. BURTIN.P., E.MARTIN, M.C.SABINE, S.v.KLEIST :
Immunological study of polyps of the colon.
J.nat.Cancer Inst.48, 25 (1972).

19. BUTLER,E.A., F.v.FLYNN :
The proteinuria of renal tubular disorders.
Lancet, 2, 978 (1958).

20. COCHRAN,A.J., R.M.MACKIE, R.M.GRANT, C.E.ROSS, M.D.CONNELL, G.SANTILANDS, K.WHALEY, D.E.HOYLE, A.M.JACKSON :
An examination of the immunology of cancer patients.
Int.J.Cancer 18, 298-309, (1976)

21. CONCANNON,J.P.,M.H.DALBOW, G.A.LIEBLER, K.E. BLAKE, C.S.WEIL, J.W.COOPER :
The carcinoembryonic antigen assay in bronchogenic carcinoma.
Cancer (Philad.) 34, 184 (1974).

21.a COOPER,E.H., R.BUNNING, S.ILLINGSWORTH, B.SPATI and J.A.CHILD :
Serial measurement of $ß_2$-microglobulin, acute phase reactant proteins and the ESR in Non-Hodgkin's lymphomas and chronic lymphocytic leukaemia.
Cancer Research,University of Leeds, and the Department of Haematology,The General Infirmary,Leeds.

22. COSTANZA, M.E.,S.DAS, L.NATHANSON, A.RULE and R.S. SCHWARTZ :
Carcinoembryonic antigen. Report of a screening study.
Cancer (Philad.) 33, 583 (1974).

23. CRESSWELL, P.,M.J. TURNER, J.L.STROMINGER :
Papain-sobubilized HLA-antigens from cultured human lymphocytes.
Proc.Nat.Acad.Sci., USA 70, 1603 (1973).

24. CRESSWELL, P., T.SPRINGER, J.L.STROMINGER, M.TURNER, H.GREY and R.KUBO :
Immunological identity of the small subunit of HLA antigens and $ß_2$-microglobulin and its turnover on the cell membrane.
Proc.Nat.Acad.Sci. USA 71, 2123 (1974).

25. CUNNINGHAM, B.A., I.L.WANG, J.BERGGARD, A.PETERSON :
The complete amino-acid sequence of $ß_2$m.
Biochemistry 12, 4811 (1973).

26. DAVER,A., J.WAFFLART, A.BEN BOUALI, J.F.MINIER, F.LARRA :
$ß_2$microglobulin and CEA in cancer pathology.
Extracts from a Symposium on $ß_2$microglobulin in proliferative disorders, Brussels, Avril 1977.

27. DAVER,A., J.WAFFLART, A.BEN BOUALI, S.F.MINIER, F.LARRA, B.AGERUP :
Beta-2-microglobulin and carcinoembryonic antigen in intestinal cancers- a correlation with stage disease.
In: Clinical Application of Carcinoembryonic Antigen Assay.
Excerpta Med.Internat.Congr. Ser.Nr. 439, pp 460-465 (1977).

28. DELPECH,A.P., P.BURTIN, F.DUPREY:
Immunofluorescent characterization of the carcino-embryonic antigen in an adenocarcinoma of the small intestine.
Rev.europ. d'étud.clin.biol. 17, 706 (1972).

29. DELWICHE, R., N.ZAMCHECK, N.MARCON :
Carcinoembryonic antigen in pancreatitis.
Cancer (Philad.) 31, 328 (1973).

30. DESCOS,L., C.ANDRE, S.BEORCHIA et al:
Serum levels of $ß_2$-microglobulin- a new marker of activity in Crohn's disease.
N.Engl.J.Med 301 : 440, 441 (1979).

31. DHAR,P., T.MOORE, N.ZAMSCHECK, H.Z.KUPCHIK :
Carcinoembryonic antigen (CEA) in colonic cancer.
J.Amer.med.Ass. 221, 31 (1972).

32. DILAWARI,J.B., J.E.LEONARD-JONES, A.M.MACKAY, J.K.RITCHIE, H.G.STURZACKER :
Estimation of carcinoembryonic antigen in ulcerative colitis with special reference to malignant change.
Gut 16, 255 (1975).

33. DUKES, C.E. :
The classification of cancer of the rectum.
J.Path.Bact.35, 323 (1932).

34. EHRLICH, P.:
Experimentelle Studien an Mäusetumoren.
Z.Krebsforschung 5, 59-81 (1907).

35. EVRIN, P.E., L.WIBELL :
Serum $ß_2$-microglobulin in various disorders.
Clin.Chim.Acta 43, 183 (1973).

36. EVRIN, P.E., K.NILSSON :
$ß_2$-microglobulin produktion in vitro by human hematopoetic mesenchymal and epithelial cells.
J.Immunol. 112, 137 (1974).

37. EVRIN,P.E., H.PERTOFT :
$ß_2$.microglobulin in human blood cells.
J.Immunol. 111, 1147 (1973).

38. EVRIN,P.E., L.WIBELL :
The serum levels and urinary excretion of $ß_2$-microglobulin in apparently healthy subjects.
Scand.J.Clin.Lab.Invest. 29,69 (1972).

39. EVRIN,P.E., P.A.PETERSON, I.WIDE, I.BERGGARD :
Radioimmunoassay of $ß_2$-microglobulin in human biologecal fluids.
Scand.J.clin.Lab.Invest.28, 439 (1971).

40. FATEH-MOGHADAM,A., W.MANTEL, D.NEUMEIER, CH.HANNIG, M.OTTE :
Wertigkeit der Bestimmung von $ß_2$-Mikroglobulin und carcinoembryonales Antigen in der Diagnostik des Pankreaskarzinoms.
Klin.Wschr.56, 267 - 270 (1978).

41. FATEH-MOGHADAM,A., W.MANTEL, P.SANDEL :
Radioimmunologische Bestimmung von $ß_2$-Mikroglobulin bei monoklonalen Gammopahtien.
Festschrift Klinikum Großhadern, L.M.Universität München. Karl-Demeter-Verlag München (1977).

42. FATEH-MOGHADAM,A., W.MANTEL, P.SANDEL :
Radioimmunologische Bestimmung von $ß_2$-Mikroglobulin bei monoklonalen Gammopathien.
Dtsch.med.Wschr. 103, 1703 (1978).

43. FATEH-MOGHADAM,A., W.MANTEL, D.NEUMEIER, CH.HANNIG, H.KRISTIN und M.OTTE:
Wertigkeit der Bestimmung von $ß_2$-Mikroglobulin ($ß_2$m) und carcinoembryonalem Antigen (CEA) in der Diagnostik des Pankreaskarzinoms.
Lab.med. 2, 175 (1978).

44. FLYNN,F.V., H.S.PLATT :
The origin of the proteins excreted in tubular proteinuria.
Clin.Chim.Acta 21, 377.

45. FOLEY, E.J.:
Attemps to induce immunity against mammary adenocarcinoma in inbred mice.
Cancer Res.13, 578 - 580 (1953).

46. FOLEY,E.J.:
Antigen properties of methylcholanthrene-induced tumours in mice of strain of origin.
Cancer Res. 13, 835-837 (1953).

47. FRANCHIMONT,P., P.F.ZANGERLE, J.C.HENDRICK, A.REUTER, C.COLIN :
Simultaneous assay of cancer associated antigens in benign and malignant diseases.
Cancer 39, 2806 (1977).

48. FREEDMAN,S.O.:
Carcinoembryonic antigen: current clinical applications.
J.All.Clin.Immunol.50, 348 (1972).

49. GARDNER,R.C., A.E.FEINERMAN, P.A.KANTROWITZ,M.ZAMSCHECK:
CEA-titers and ulcerative colitis.
Gastroenterology 68, 897 (1975).

50. GOLD,P., S.O.FREEDMAN :
Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques.
J.exp.Med. 121, 439 (1965).

51. GOLD,P., S.O.FREEDMAN :
Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system.
J.exp.Med.122, 467 (1965).

52. GOLD,P., M.GOLD, S.O.FREEDMAN :
Cellular location of carcinoembryonic antigens of the human digestive system.
Cancer Res.28, 1331 (1968).

53. GREY,H.M., R.T.KUBO, S.M.COLON, M.D.POULIK,P.CRESSWELL, T.SPRINGER, M.TURNER, J.L.STROMINGER :
The small sub. of HLA-Antigen is $ß_2$-microglobulin.
J.exp.Med. 138, 1608 (1973).

54. GROPP,C., F.-G.LEHMANN,K.HAVEMANN :
Carcinoembryonales Antigen (CEA) im Serum von Patienten mit Bronchialkarzinom.
Dtsch.med.Wschr.102, 1079 (1977).

55. HALL, P.W., J.F.ROUX :
Amniotic fluid beta-2-microglobulin concentration- an index of gestational age.
Am.J.Obstet Gynecol.120, 56 (1974).

56. HALL, P.W., M.VASILJEVIC :
Beta$_2$-microglobulin excretion as an index of renal tubular disorders with special reference to endemic Balkan nephropathie.
J.Lab.Clin.Med.81, 897 (1973).

57. HANSEN,H.J., J.J.SNYDER, E,MILLER, J.P.VANDEVOORDE, O.N.MILLER,L.R.HINES and J.J.BURNS :
Carcinoembryonic antigen (CEA) assay; a laboratory adjunct in the diagnosis and manegement of cancer.
Hum.Path.5, 139 (1974).

58. HARRIS,R., R.F.JENNISON, A.J.BARSON, K.M.LAURENCE, E.RUOSLATHI, M.SEPPÄLÄ :
Conparisonof amniotic fluid and maternal serum alpha-fetoprotein levels in the early antenatal diagnosis of spina bifida and anencephaly.
Lancet I, 429 (1974).

59. HÜTTENROTH,T.H., H.CLEVE:
ß$_2$-Mikroglobulin: Struktur und Funktion eines Immunglobulin-Homologs.
Immunität u. Infektion 4, 110-115 (1976).

60. HÜTTENROTH,T.H., H.CLEVE, S.D.LITWIN, M.D.POULIK :
The relationship between ß$_2$-microglobulin and immunoglobulin in cultured human lymphoid cell lines.
J.Exp.Med.137, 838 (1973).

61. HÜTTENROTH,T.H., P.WERNET, R.STERN, A.SINGER, S.FU, H.CLEVE, H.KUNKEL :
Wirkung von anti-ß$_2$-Mikroglobulin-Antikörper auf die Lymphozytentransformation in vitro.
Z.Immun.-Forsch.150, 211 (1975).

62. JOHANSSON, G.B., U.RAVNSKOV :
The serum level and urinary excretion of alpha$_2$-microglobulin, ß$_2$-microglobulin and lysozyme in renal disease.
Scand.J.Urol.Nephrol.6, 249 (1972).

63. JONASSON,L.E., P.E.EVRIN, K.WIBELL :
Content of ß$_2$-microglobulin and albumin in human amniotic fluid.
Acta Obstet.Gynec.Scand. 53, 49 (1974).

64. KARLSSON,F.A. :
Physical-chemical properties of ß$_2$-microglobulin.
Immunochemistry 11, 111 (1974).

65. KARLSSON,F.A., K.SEGE, M.BEAUDUIN, E.PLUYGERS, L.WIBELL, T.GROTH, P.A.PETERSON :
Turnover studies of ß$_2$-microglobulin in normal persons and in patients with increased serum levels of th protein.
Extracts from a Symposium on ß$_2$-microglobulin in proliferative disorders. p 31, Brussels, April 1977.

66. KHOO, S.K., I.R.MACKAY :
Carcinoembryonic antigen in serum in diseases of the liver and pancreas.
J.clin.Path.26, 470 (1973).

67. KHOO,S.K., N.L.WARNER, J.T.LIE, I.R.MACKAY:
Carcinoembryonic antigenic activity of tissue extracts. A quantitative study of malignant and banign neoplasms, cirrhotic liver, normal adult and fetal organs.
Int.J.Cancer 11, 681 (1973).

68. KINDT,R., P.M.VAN VAERENBERGH :
Preliminary study of ß$_2$-microglobulin in cancer patients.
Acta Clin. B 31, 33 (1976).

69. KITHIER, K., J.CEJKA, J.BELAMARIC, M. AL-SARRAF, W.D.PETERSON, V.K.VAITKEVICIUS, M.D.POULIK : $ß_2$-microglobulin: occurence in fetal life and malignancy. Clin.Chim.Acta 52, 293 (1974).

70. V.KLEIST, S.V., P.BURTIN : Localisation cellulaire d'un antigène embryonnaire de tumeurs coliques humaines. Int.J.Cancer 4, 874 (1969).

71. V.KLEIST, S.V. : Carcino-embryonic antigen (CEA). Immunochemical and immunohistological study. Bull.Ass.franc.Cancer (Philad.) 60, 393 (1973).

72. KOHN,J. and P.C.WEAVER : Serum-$alpha_1$-fetoprotein in hepatocellular carcinoma. Lancet II, 334 (1974).

73. KOURILSKY,F.M., D.SILVESTRE, C.NEAUPORT-SAUTES, Y.LOOSFELD, J.DAUSSET: Antibody-inducet redistribution of HLA-antigens at the cell surface. Eur.J.Immunol.2, 249 (1972).

74. KRUIS,W., A.FATEH-MOGHADAM, P.SANDEL : Serum levels of $ß_2$-microglobulin: a new marker of activity in Crohn's disease ? The New England Journal of Medicine, Vol.301, 1348, Dec.13 (1979).

75. KULLBACK, S.: Information theory and statistics. Wiley, New York (1968).

76. KULLBACK, S., M.FISHER : Partitioning second-order interaction in treeway contingency tables. App.Statistic C 22, 172-191 (1973).

77. KULT,J., CH.LÄMMLEIN, A.RÖCKEL, A.HEIDLAND :
$ß_2$-Mikroglobulin im Serum - ein Parameter des Glomerulumfiltrates.
Dtsch.med.Wschr. 99, 1686 (1974).

78. LAMERZ, R., A.FATEH-MOGHADAM :
Carcinofetale Antigene.II.Carcinoembryonales Antigen (CEA).
Klin.Wschr. 53, 193 (1975).

79. LAURENCE,D.J.R., U.STEVENS, R.BETTELHEIM, D.DARCY, C.LEESE, C.TURBERVILLE, P.ALEXANDER, E.W.JOHNS, A.M.NEVILLE :
Role of plasma carcinoembryonic antigen in diagnosis of gastrointestinal, mammary, and bronchial carcinoma.
Brit.med.J. III, 605 (1972).

80. LEHMANN, F.G. :
Der Nachweis von Alpha$_1$-Fetoprotein bei internen Erkrankungen - aktueller Stand des Problems.
Internist 13, 332 (1972).

81. LEHMANN, F.G. und D.LEHMANN :
Neue immunologische Techniken und quantitative Bestimmung von Alpha$_1$-Fetoprotein in der Tumordiagnostik.
Verh.dtsch.Ges.inn.Med. 78, 841 (1972).

82. LEHMANN, F.G. und D.LEHMANN :
Vergleich verschiedener Methoden zum serologischen Nachweis von Alpha$_1$-Fetoprotein im Serum.
Z.klin.Chem. 11, 339 (1973).

83. LEHMANN, F.G.
Tumorantigene.
Dtsch.med.Wschr. 99, 410 (1974).

84. LEHMANN, F.G. und D.LEHMANN :
Alpha$_1$-Fetoprotein in malignen Tumoren.
Klin.Wschr. 52, 222 (1974).

85. LITHBODY,J.J., L.URBANY, M.D.POULIK :
Effects of $ß_2$-microglobulin antibody on effector function on T-cell mediated cytotoxicity.
Nature 250, 227 (1974).

86. LINDBLOM, J.B., L.ÖSTBERG, P.A.PETERSON :
$ß_2$-microglobulin on the cell surface.Relationship to HLA-antigens and the mixed leucocyte culture reaction.
Tissue Antigens 4, 186 (1974).

87. LO GERFO,P., J.KRUPEY, H.J.HANSEN :
Demonstration of an antigen common to several varieties of neoplasia.
New Engl.J.Med. 285, 138 (1971).

88. DI MAGNO, E.P., J.R.MALAGELADA, C.G.MOERTEL, L.W.VAY :
Prospective evaluation of the pancreatic secretion of immunoreactive carcinoembryonic antigen, enzyme and bicarbonate in patients suspected of having pancreatic cancer.
Gastroenterology 73, 457 (1977).

89. MANTEL, W., A.FATEH-MOGHADAM, D.NEUMEIER, CH.HANNIG, M.OTTE :
Wertigkeit der $ß_2$m- und CEA-Bestimmung in der Diagnostik maligner Tumoren.
Abstract 84. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin,Wiesbaden, 2.-3.April 1978.

90. MACH, J.P., P.JAEGER, M.M.BERTHELOT, C.H.RUEGSEGGER, R.M.LOOSLI, J.PETTAVEL :
Detection of recurrence of largebowel carcinoma by radioimmunoassay of circulating carcinoembryonic antigen (CEA).
Lancet II, 535 (1974).

91. MARTIN, F., M.S.MARTIN :
Demonstration of antigens related to colonic cancer in the human digestive system.
Int.J.Cancer 6, 352 (1970).

92. MARTIN,E.W., K.JAMES, P.E.HURTUBISE, P.CATALANO, J.P.MINTON :
The use of CEA as an early indicator for gastrointestinal tumor recurrence and second-look procedures.
Cancer 39, 440 (1977).

93. MARX, J.L. :
Immunology: Role of $ß_2$-microglobulin.
Science 185, 428 (1974).

94. MAYR, W.R. :
Molekulare Assoziation des $ß_2$-Mikroglobulins mit serologisch definierbaren Merkmalen an der Lymphozytenoberfläche.
Z.Immun.-Forsch. 148, 92 (1974).

95. MEEKER, W.R. JR.,R.KASHMIRI, L.HUNTER, W.CLAPP, W.C.GRIFFIN JR.
Clinical evaluation of carcinoembryonic antigentest.
Arch.Surg.107, 266 (1973).

96. MILLER, A.B. :
The joint National Cancer Institute of Canada/ American Cancer Society study of a test for carcinoembryonic antigen (CEA).
Cancer (Philad.) 34, 932 (1974).

97. MIYAKAWA, Y., N.TANIGAKI, V.P.KREITER, G.E.MOORE, D.PRESSMANN :
Characterization of soluble substances in the plasma carrying HLA alloantigenetic activity and HLA common antigenic activity.
Transplant. 15, 3 312 (1973).

98. MOORE, T.,P.DAHR, N.ZAMSCHECK, H.Z.KUPCHIK :
Carcinoembryonic antigen (CEA) in diagnosis of digestive tract cancer.
In: Embryonal and fetal antigens in cancer,eds. N.G. Anderson and J.H.Coggin, vol.1,p.393,Nat.Tech.Inf.S. (1971).

99. NAKAMURO, K., N.TANIGAKI, D.PRESSMAN :
Multiple common properties of human $ß_2$-microglobulin and the common portion fragment derived from HLA-antigen molecules.
Proc.Nat.Acad.Sci. USA 70, 2863 (1973).

100. NEAUPORT-SAUTES, C., A.BISMUT, F.M.KKOURILSKY, Y.MANUEL :
Relationship between HLA-antigens and $ß_2$-microglobulin as studied by immunofluorescence on the lymphocyte membrane.
J.Exp.Me. 139, 957 (1974).

101. NEUMEIER, D., A.FATEH-MOGHADAM, W.MANTEL, CH.HANNIG, H.KRISTIN :
Verbesserung der serologischen Differenzierung von Pancreascarcinom und chronischer Pankreatitis durch Bestimmung von carcinoembryonalem Antigen und $ß_2$-Mikroglobulin.
Fresenius Z.Anal.Chem.290, 139-140 (1978).

102. NEUMEIER, D., B.GLÜCK, A.FATEH-MOGHADAM, M.KNEDEL:
Methodische Durchführung und Ergebnisse der Qualitätskontrollversuche der CEA-Bestimmung unter Verwendung eines kommerziellen Radioimmunassay-Kits.
In: F.G.Lehmann.Tumor-Antigene in der Gastroenterologie. München: Karl Demeter (1976).

103. NEUMEIER, D., B.GLÜCK, A.FATEH-MOGHADAM, M.KNEDEL :
Klinische Bedeutung der CEA-Bestimmung in der Diagnostik des Pankreaskarzinoms.
In: F.-G.Lehmann: Tumorantigene in der Gastroenterologie 2.95. München:Karl Demeter (1976).

104. NEVILLE, A.M. and D.J.R.LAURENCE :
Report of the workshop on the carcinoembryonic antigen (CEA): the present position and proposals for future investigation.
Int.J.Cancer 14, 1 (1974).

105. NEVILLE, A.M., E.H.COOPER :
Biochemical monitoring of cancer.
Ann.Clin.Chem.13, 283-305 (1976).

106. NILSSON, K., P.-E.EVRIN, K.I.WELSH :
Produktion of $ß_2$-microglobulin by normal and malignant human cell lines and peripheral lymphocytes.
In: G.Möller (Hrsg.): Transplantation reviews,Bd.21, Munksgaard.Copenhagen, S.53 (1974).

107. ÖSTBERG, L., J.B.LINDBLOM, P.A.PETERSON :
Subunit structure of HLA-antigens on cell surface.
Nature 249, 463 (1974).

108. OH, S.K., M.A.PELLEGRINO, S.FERRONE, E.D.SEVIER, R.A.REISFELD :
Soluble HLA-antigens in serum.
Eur.J.Immunol.5, 161 (1975).

109. PETERSON, P.A., P.-E.EVRIN, J.BERGGARD :
Differentiation of glomerular, tubular and normal proteinuria.Determination of urinary excretion of $ß_2$-microglobulin, albumin, and total protein.
J.clin.Invest.48, 1189 (1969).

110. PETERSON, P.A., L.RASK, J.B.LINDBLOM :
Highly purified papain-solubilized HLA-antigens contain $ß_2$-microglobulin.
Proc.nat.Acad.Sci. (Wash.) 71, 35 (1974).

111. PETERSON, P.A., B.A.CUNNINGHAM, J.BERGGARD, G.M. EDELMAN :
$ß_2$-microglobulin. A free immunglobulin domain.
Proc.Nat.Acad.Sci. USA 69, 1697 (1972).

112. PLESNER, T., B.NÖRGGAARD-PEDERSEN, T.BOENISCH :
Radioimmunoassay of $ß_2$-microglobulin.
Scand.J.Clin.Lab.Invest. 35, 729 (1975).

113. PLUYGERS,E., M.BEAUDAIN :
The determination of $ß_2$-microglobulin in cancer patients. A comparison with CEA levels.
Extracts from a Symposium on $ß_2$-microglobulin in proliferative disorders.
Brussels, April (1977).

114. POULIK, M.D. :
Presence of $ß_2$-microglobulin on B and T cells and lymphocytotoxicity of anti-$ß_2$-microglobulinsera.
Immunol.Comm.2, 403 (1973).

115. POULIK, M.D., M.BERNOCO, D.BERNOCO, R.CEPELLINI :
Aggregation of HLA-antigens at the lymphozyte surface induced by antiserum to $ß_2$-microglobulin.
Science 182, 1352 (1973).

116. POULIK, M.D., J.BERGGARD :
$ß_2$-microglobulins.
Progress in Immunology 2, 1 eds. L.Brent and J.Holborow. (1974).

117. POULIK, M.D.,S.FERRONE, M.A.PELLEGRINO, D.E.SEVIER, S.k.OH, R.A.REISFELD :
Association of HLA-antigens and $ß_2$-microglobulin: Concepts and questions.
Transplant.Rev. 21, 106 (1974).

118. POULIK, M.D.:
$ß_2$-microglobulin.
In: The plasma proteins.Structure, function and genetic control. Bd.1.
Academic Press, London-New York, 433 (1975).

119. RAVRY, M., V.L.W.GO, A.H.SCHUTT :
Usefulness of serial carcinoembryonic antigen (CEA) during anti-cancer therapy or long-term follow-up gastrointestinal cancer. (Abst.No.85).
Amer.Soc.clin.oncol.Ann.Meet.April 1973.

120. RAVNSKOV, U., B.G.JOHANSSON, J.GÖTHLIN :
Renal extraction of $ß_2$-microglobulin.
Scand.J.Clin.Lab.Invest.30 71 (1972).

121. REISFELD, R.A., E.D.SEVIER, M.A.PELLEGRINO,S.FERRONE, M.D.POULIK :
Association of HLA-antigens and $ß_2$-microglobulin at the cellular and molecular level.
Immunogenetics 2, 183 (1975).

122. RINGDEN, O. :
Activation of human lymphocyte subpopulations by rabbit anti-human-$ß_2$-microglobulin and by lipopolysaccharide.
Scand.J.Immun. 5, 891 (1976).

123. RINGDEN, O., E.MÖLLER :
B-cell mitogenic effects on human lymphocytes of rabbit anti-human-$ß_2$-microglobulin.
Scand.J.Immunol.4, 171 (1975)

124. RINGDEN, O., E.MÖLLER :
Use of mitogens for the functional characterization of human lymphocyte subpopulations. With special reference to activation of human B lymphocytes by antibodies to $ß_2$-microglobulin.
Sand.J.Immunol.5, Suppl.5 (1976).

125. SEVIER, E.D., R.A.REISFELD :
Semi-automatic solidphase double-antibody radioimmunoassay for $ß_2$-microglobulin.
Immunochem.13, 1196 (1975).

126. SHUSTER, J., P.GOLD, M.D.POULIK :
$ß_2$-microglobulin elvels in cancerous and other disease states.
Clin.Chim.Acta 67, 307 (1976).

127. SHUSTER, J., P.GOLD, M.D.POULIK :
$ß_2$-microglobulin levels in neoplastic disease.
Clin.Chim.Acta 68, 401 (1976).

128. SILVER, H.K.B., P.GOLD, S.SHUSTER, N.B.JAVITT,
S.O.FREEDMAN, N.D.C.FINLAYSON :
$Alpha_1$-fetoprotein in chronic liver disease.
New.Ingl.J.Med. 291, 506 (1974).

129. SKARIN, A.T., R.DELWICHE, N.ZAMSCHECK, J.J.LOCKICH,
E.FREI III :
Carcinoembryonic antigen: Clinical correlation with
chemotherapy for metastatic gastrointestinal cancer.
Cancer (Philad.) 33, 1239 (1974).

130. SMITHIES, O., M.D.POULIK :
Initiation of protein synthesis at an unusual position
in an immunglobulin gene ?
Science 175, 187 (1972).

131. SMITHIES, O., M.D.POULIK :
Subunit structure of HLA-antigens on cell surface.
Science 175, 187 (1972).

132. STEWARD, A.M., D.NIXON, N.ZAMSCHECK, A.AISENBERG :
Carcinoembryonic antigen in breast cancer patients:
serum levels and disease progress.
Cancer (Philad.) 33, 1246 (1974).

133. SOLHEIM, B.G., B.RANKIN, B.HOLMBOE :
Association of $ß_2$-microglobulin and HLA in cell-mem-
brane-general property in hamn cells.
Transplant. 19, 281 (1975).

134. SOLHEIM, B.G., E.THORBY :
$ß_2$-microglobulin is part of the HLA molecule in the
lymphocyte membrane.
Nature 249 (1974).

135. SOLHEIM, B.G., E.THORBY :
$ß_2$-microglobulin. Part of the HLA molecule in the cell membrane.
Tissue Antigens 4, 83 (1974).

136. MAC SWEEN, J.M., N.L.WARNER, A.D.BANKHURST, I.R.MACKAY :
Carcinoembryonic antigen in whole serum.
Brit.J.Cancer 26, 356 (1972).

137. TANIGAKI, N., K.NAKAMURO, E.APELLA, M.D.POULIK, D.PRESSMAN :
Identity of the HLA common portion fragment and human $ß_2$-microglobulin.
Biochem.biophys.Res.Commun.55, 1234 (1973).

138. TANIGUCHI, N., M.TANAKA, K.KOBAYASH, I.MADSUDA, H.OHNO, T.SATO, E.TAKAKUWA :
Solid-phase radioimmunoassay for human $ß_2$-microglobulin.
Clin.Chim.Acta 69, 471 (1976).

139. TATARINOV, YU.S. :
Presence of ebryospecific alpha globulin in the serum of patients with primary hepatocellular carcinoma.
Vop.med.Khim. 10, 90 (1964).

140. TAYLOR,R.B., W.P.H.DUFFUS, M.C.RAFF, S.DE PETRIS :
Redistribution and pinocytosis of lymphocyte surface immunoglobulin molecules induced by anti-immunglobulin antibody.
Nature New Biology 233, 223 (1971).

141. TEASDALE, C., A.M.MANDER, R.FIFIELD, J.W.KEYSER, R.G.NEWCOMBE, L.E.HUGHES :
Serum $ß_2$-microglobulin in Controls and Cancer Patients.
Clinica Chimica Acta 78, 135 - 143 (1977).

142. VINCENT,C., J.P.REVILLARD :
Comparison of radioimmunoassay and lymphocytotoxicity inhibition techniques for the determination of $ß_2$-microglobulin.
J.Immunol.Methods 10, 253 (1976).

143. WIBELL, L.:
Studies of $ß_2$-microglobulin in human serum, urine and amniotic fluid.
Doctoral thesis at Uppsala University (1974).

144. WIBELL, L., F.A.KARLSSON :
The serum level of $ß_2$-microglobulin ($ß_2$m), a low molecular weight protein.
Protides in Biological Fluids 23, 343 (1975).

145. WIBELL, L.:
Studies on $ß_2$m in patients and normal subjects.
Acta Clinica Belgica 31, Supp.8 (1976).

146. WIBELL, L., P.-E.EVRIN, J.BERGGARD :
Serum $ß_2$-microglobulin in renal disease.
Nephron 10, 320 (1973).

146 a) WOOD, R.A.B., A.R.MOOSSA :
The prospective evaluation of tumour-associated antigens for the early diagnosis of pancreatic cancer.
Br.J.Surg.Vol.64, 718-720 (1977).

147. ZAMSCHECK, N., T.L.MOORE, P.DHAR, H.KUPCHIK, J.J.SOROKIN:
Carcinoembryonic antigen in benign and malignant disease of the digestive tract.
Nat.Cancer Inst.Monogr. 35, 433 (1972).

148. ZAMSCHECK, N. :
Carcinoembryonic antigen: quantitative variations in circulating levels in benign and malignant digestive tract diseases.
Advanc.intern.Med. 19, 413 (1974).

149. ZAMSCHECK, N., H.Z.KUPCHIK :
The interdependence of clinical investigations and methodological development in the early evolution of assays for carcinoembryonic antigen.
Cancer Res. 34, 2131 (1974).

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Klinische Chemie am Klinikum Großhadern der Universität München (Direktor: Prof. Dr. M.Knedel) durchgeführt.

Für die Gewährung der Arbeitsmöglichkeit an diesem Institut sowie für die Übernahme des Koreferates danke ich Herrn Prof. Dr. M.Knedel.

Herrn Prof. Dr.A.Fateh-Moghadam möchte ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und für die vielen Anregungen bei der Durchführung und die großzügige Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit ganz besonders herzlich danken.

Herrn Dr.P.Sandel danke ich für seine Mithilfe bei einigen Berechnungen.

Herrn PD. Dr.M.Otte danke ich für die Hilfe bei einigen Diagnosesicherungen und die Überlassung wichtiger Plasmaproben.

Herrn PD.Dr.D.Neumeier danke ich für die zahlreichen Anregungen und seine konstruktive Kritik.

L E B E N S . A .

16.Juni 1952	geboren in Regensburg als Sohn von Prof.Dr.Kurt Hannig (apl.Prof. an der Med.Fakultät der Universität München und Direktor am Max-Planck-Institut) und Edeltraud Hannig, geb.Lauterbach, Hausfrau und frühere Lehrerin.
30.Juni 1956	Umzug nach Krailling vor München
1. Sept.1959	Eintritt in die Volksschule Planegg, nach vier Jahren
1. Sept.1963	Eintritt in das neusprachliche Kurt-Huber-Gymnasium in Gräfelfing.
Mai 1972	Abitur an diesem Gymnasium mit dem Notendurchschnitt 1,6.
Nov. 1972	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
11.4. 1974	Physikum an der LMU-München
27.9. 1976	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung bestanden
18.9. 1978	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung bestanden
30.10.1979	Schriftlicher Teil des 3.Staatsexamens bestanden
13.11.1979	Mündlicher Teil des 3.Staatsexamens bestanden.
22. 1.1980	Approbation erhalten.
1. 4.1980	Einstellung als Wissenschaftliche Hilfskraft an der I.Med.Klinik des Universitätsklinikums Großhadern, wo ich seither tätig bin.